

Tesis Doctoral

Estructura de las tramas planctónicas microbianas de lagos de la Patagonia Austral con características contrastantes

Saad, Juan Francisco

2016

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Saad, Juan Francisco. (2016). Estructura de las tramas planctónicas microbianas de lagos de la Patagonia Austral con características contrastantes. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://hdl.handle.net/20.500.12110/tesis_n5899_Saad

Cita tipo Chicago:

Saad, Juan Francisco. "Estructura de las tramas planctónicas microbianas de lagos de la Patagonia Austral con características contrastantes". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2016. http://hdl.handle.net/20.500.12110/tesis_n5899_Saad

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Departamento de Ecología, Genética y Evolución

**Estructura de las tramas planctónicas
microbianas de lagos de la Patagonia Austral
con características contrastantes**

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires, en el
área de Ciencias Biológicas

Lic. Juan Francisco Saad

Directores: Dra. Irina Izaguirre

Dr. Fernando Unrein

Consejero de estudios: Dra. Irina Izaguirre

Lugar de trabajo: Laboratorio de Limnología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales,
Universidad de Buenos Aires

Buenos Aires, diciembre del 2015

Fecha de defensa: 24 de febrero del 2016

Índice general

Resumen	Pág. 1
Abstract	Pág. 2
Agradecimientos	Pág. 3
Dedicatoria	Pág. 6
Capítulo 1: Introducción general	Pág. 7
Capítulo 2: Metodología general	Pág.14
<i>Muestreos y variables físicas y químicas</i>	Pág.15
<i>Fitoplancton >2µm</i>	Pág.16
<i>Ciliados</i>	Pág.17
<i>Flagelados heterotróficos (FH)</i>	Pág.17
<i>Picoplancton</i>	Pág.18
<i>Citometría de flujo</i>	Pág.18
<i>Diversidad del bacterioplancton (CARD-FISH)</i>	Pág.19
<i>Experimentos de ingestión</i>	Pág.20
<i>Análisis estadísticos</i>	Pág.22
Capítulo 3: La importancia de factores ambientales y espaciales en la diversidad del fitoplancton en lagos a lo largo de una transecta latitudinal de 2150 km (Patagonia Austral Antártida)	Pág.25
<i>Introducción</i>	Pág.26
<i>Área de estudio</i>	Pág.29
<i>Resultados</i>	Pág.32
<i>VARIABLES ambientales</i>	Pág.32
<i>Análisis de diversidad basada en determinaciones morfológicas</i>	Pág.34
<i>Análisis de la diversidad de eucariotas con una aproximación molecular</i>	Pág.39
<i>Discusión</i>	Pág.41
Capítulo 4: Comunidades planctónicas microbianas en ambientes acuáticos continentales de Tierra del Fuego: Estrategias tróficas dominantes en lagos con características contrastantes	Pág.45
<i>Introducción</i>	Pág.46
<i>Área de estudio</i>	Pág.49
<i>Resultados</i>	Pág.52

<i>Composición de las comunidades planctónicas microbianas</i>	Pág.54
<i>Análisis multivariados</i>	Pág.62
<i>Abundancias del nanoplancton y microplancton</i>	Pág.65
<i>Discusión</i>	Pág.67
Capítulo 5: Comunidades planctónicas microbianas en lagos de la meseta del Lago Strobel (Santa Cruz, Argentina): ¿existen evidencias de impacto de la introducción de peces?	Pág.73
<i>Introducción</i>	Pág.74
<i>Área de estudio</i>	Pág.76
<i>Resultados</i>	Pág.78
<i>Picoplancton</i>	Pág.81
<i>Nanoflagelados heterotróficos y ciliados</i>	Pág.88
<i>Fitoplancton</i>	Pág.89
<i>Discusión</i>	Pág.92
Capítulo 6: Ensamblajes de algas mixotróficas en lagos que presentan diferentes estados tróficos y contenidos de Carbono orgánico disuelto (COD)	Pág.97
<i>Introducción</i>	Pág.98
<i>Área de estudio</i>	Pág.101
<i>Resultados</i>	Pág.102
<i>Agrupamiento de lagos</i>	Pág.102
<i>Ensamblajes de algas mixotróficas</i>	Pág.106
<i>Comportamiento fagotrófico de las algas mixotróficas</i>	Pág.109
<i>Discusión</i>	Pág.112
Capítulo 7: Resumen y conclusiones generales	Pág.116
Referencias bibliográficas	Pág.120
Anexo 1: Taxa fitoplanctónicas identificados mediante análisis microscópicos en los diferentes grupos de lagos (Patagonia y Antártida)	Pág.137
Anexo 2: Grupos funcionales de fitoplancton observados en los diferentes grupos de lagos de la Patagonia y la Antártida	Pág.145
Subsidios que financiaron esta Tesis	Pág.147

Estructura de las tramas planctónicas microbianas de lagos de la Patagonia Austral con características contrastantes

Resumen

Esta Tesis Doctoral se centra en el estudio a diferentes escalas espaciales (latitudinal, regional y local) de las tramas planctónicas microbianas de lagos de la Patagonia Austral con características limnológicas contrastantes, con el objetivo de determinar los principales factores que influyen en la estructura de las comunidades (locales y/o geográficos). Las comunidades se analizaron mediante una aproximación polifacética, incluyendo técnicas de microscopía, citometría de flujo y CARD-FISH, y se realizaron experimentos para evaluar el impacto de los protistas sobre el bacterioplancton. En primer lugar se realizó un análisis de la comunidad fitoplanctónica a lo largo de un gradiente latitudinal de lagos, evidenciándose la disminución de la diversidad hacia mayores latitudes, así como el efecto conjunto de los factores geográficos y ambientales locales en la estructura de la comunidad. Por otro lado, en dos regiones particulares (Tierra del Fuego y Meseta del Strobel, Argentina), se observaron importantes diferencias en la estructura de las comunidades entre diferentes tipos de lagos, tanto en la composición del picoplancton heterotrófico y autotrófico, como en la diversidad de especies y de grupos funcionales fitoplanctónicos, las que se asociaron principalmente al estado trófico del ambiente y el carbono orgánico disuelto, y en particular en lagos del Strobel a la presencia/ausencia de peces exóticos introducidos (truchas). Por último, se analizó la comunidad de algas mixotróficas evidenciándose una variación en los ensambles en función del estado trófico del ambiente, donde las especies primariamente heterotróficas dominaron lagos oligotróficos. Los experimentos mostraron mayores tasas de ingestión específicas en los lagos más oligotróficos para todos los grupos de mixótrofos analizados.

Palabras clave

COMUNIDADES MICROBIANAS, FITOPLANCTON, LAGOS, DIVERSIDAD, BIOGEOGRAFÍA, GRADIENTE LATITUDINAL, TIERRA DEL FUEGO, MESETA DEL STROBEL, INTRODUCCIÓN DE PECES, ESTADO TRÓFICO, CARBONO ORGÁNICO DISUELTO

Structure of the microbial planktonic food webs in lakes from Austral Patagonia with contrasting features

Abstract

This Thesis is focused on the study at different spatial scales (latitudinal, regional and local) of the microbial planktonic communities from lakes of Austral Patagonia with contrasting limnological characteristics, in order to determine the main factors (local and/or geographic) influencing their structure. The communities were analyzed using a polyphasic approach, including techniques of microscopy, flow cytometry and CARD-FISH and by conducting bacterivory experiments to assess the impact of protists on bacterioplankton. Firstly, an analysis of the phytoplankton community along a latitudinal gradient of lakes was performed, observing a decrease of diversity toward higher latitudes, as well as the effect of both geographical and local environmental factors on the community structure. On the other hand, in two particular regions (Tierra del Fuego and Strobel Plateau, Argentina), significant differences in the community structure between different types of lakes were found, both in the composition of heterotrophic and autotrophic picoplankton, as well as in the diversity of phytoplankton species and functional groups, which were mainly associated with the trophic state of the environment and dissolved organic carbon, and particularly in lakes of the Strobel, to the presence/absence of introduced exotic fish (trout). Finally, the community of mixotrophic algae was analysed, evidencing a variation in the assemblages depending on the trophic state of the lakes, where primarily heterotrophic species dominated in oligotrophic systems. Experiments showed higher specific ingestion rates in the oligotrophic lakes for all analyzed mixotrophic groups.

Key words

MICROBIAL COMMUNITIES, PHYTOPLANKTON, LAKES, DIVERSITY, BIOGEOGRAPHY, LATITUDINAL GRADIENT, TIERRA DEL FUEGO, STROBEL PLATEAU, FISH INTRODUCTION, TROPHIC STATE, DISSOLVED ORGANIC CARBON

Agradecimientos

Mi primer agradecimiento va dirigido a mis directores de tesis:

A la Dra. Irina Izaguirre por abrir mi camino a la ciencia y ayudarme a dar mis primeros pasos en la investigación, que es a lo que quiero dedicarme durante toda mi vida. Agradezco la libertad con la que ella siempre me dejó trabajar, acompañando cada una de mis ideas con su apoyo y entusiasmo, nunca dejarme solo y siempre hacer lo imposible para que pueda progresar. Sin duda ella es un claro ejemplo para mí, que con empeño y dedicación no existen barreras para lo que uno puede lograr.

Al Dr. Fernando Unrein, que fue jurado de mi tesis de licenciatura y luego ya iniciado mi doctorado se incorporó como mi director de tesis. Por siempre estar ahí para lo que necesité, por escucharme y por su gran rigurosidad científica, agradezco también su gran esfuerzo en las correcciones de los capítulos de la tesis. Sin duda es un referente para mí en la ciencia, valoro muchísimo sus opiniones, aportes e ideas.

A todos los integrantes del laboratorio de Limnología: algunos desde el principio y continúan, otros ya se fueron y otros llegaron hace poquito. A todos los quiero mucho, fueron y son una parte muy importante en mi vida. Con mucha alegría puedo decir que hicieron que “el labo” no sea solamente mi lugar de trabajo, sino también un lugar de encuentro y de disfrute. Sin excepción siempre recibí apoyo, buena onda y compañía de todos ellos. Realmente voy a extrañarlos muchísimo, aunque estoy seguro que vamos a continuar esta hermosa amistad a pesar de la distancia: A Iri por las charlas tranquilizadoras cuando estaba preocupado por alguna cosa y por acompañarme durante toda esta hermosa experiencia. A Inés por las largas mateadas y por los consejos. A Haydée por siempre tener la mejor onda conmigo y ofrecerme todo lo pudiera necesitar. A Guillermo, que lo vi poquito, pero siempre preocupándose de cómo iban mis cosas. A Ali por su cariño y la ayuda incondicional de siempre. A Rubén por las charlas divertidas y por las cervezas. A Patri, por el vínculo tan especial que estrechamos y también por la “abstracción”. A Paula por su dulzura y las lindas charlas de vecinos de escritorio. A Rodri por ser tan especial y siempre estar para darme una mano. A Sole por su infinita bondad y calidez, por alegrarse siempre de mis logros. A Luz por los 2 o 3 matecitos de la mañana cuando llego y siempre interesarse en cómo estoy. A Solange por la buena onda y el cariño, por los consejos. A Lau por su amistad y por el apoyo de siempre, por los mates fríos que siempre tuvo que soportar. A Romi por estar siempre ofreciéndome una mano para lo que sea y por los consejos siempre tan oportunos. A Pablo por continuamente esclarecer mis dudas de los asuntos

administrativos del doctorado y por su buena onda. A Euge por distraerme de la ciencia en cada una de nuestras conversaciones y por las galletitas que yo me dejaba robar a cambio de eso. A Gri por los lindos momentos que compartimos en el labo. A Lilen por las vueltas más cortas en el 160 y por los lindos recreos de mate. A Sol por la buena onda de siempre, por bancar mis momentos de estrés y por su grata compañía. A Maru por su afecto y por los chusmeríos mediados por mate. A Ruth por ser tan linda persona conmigo y por el curso intensivo de colombiano. A Lucía por las gratas visitas y por el maravilloso posa mate. A Guille por su extremo entusiasmo contagioso. A Carmen por su positivismo y alegría. A Martín por su gran amabilidad y la buena onda de siempre. A Vero por las conversaciones que me dejaban pensando y por su cariño. A Vicky por su paciencia eterna y por las miles de veces que me salvó. A Gabita por su afecto y por siempre estar presente, inclusive desde la distancia.

A Malala, mi compañera de la vida, por su eterna paciencia, aguante y apoyo en todos mis proyectos. Por su amor y por estar siempre junto a mí, dándome fuerzas para continuar.

A mi papá, mamá, hermanos y abuela. Por el eterno apoyo, aunque a veces sin entender mucho lo que hago. Por siempre enorgullecerse y alegrarse de mis logros. Por su ayuda.

A mis amigos, por siempre bancarme durante todas las etapas de e

A Iri, Cristina, Julio, Kini, Patri, Inés, Malala, Romi, Sebas, por su arduo trabajo durante las campañas, me divertí mucho siempre con ustedes y valoro mucho su colaboración.

A Julio, por enseñarme todo lo que tengo que saber para andar en la meseta, por la ayuda y compañía durante las campañas.

A la compañera Ruth, sin su empeño nunca hubiera podido enfrentar el CARD-FISH.

A Kini, por llevarnos por primera vez al Strobel, ese lugar tan maravilloso. Por preocuparse por que no me falte nada durante las campañas.

A Romi por ayudarme con los recuentos de pico de los primeros muestreos.

A Rubén por su conocimiento inagotable de estadística y por dejar siempre de hacer lo que estaba haciendo para explicarme alguna cosa.

A Nancy y Paula, por su colaboración desinteresada y buena onda en la preparación de las bacterias.

A Guillermo del citómetro, por soportar mi inseguridad y enseñarme a pasar las muestras.

A la gente de Estancia Laguna Verde y Estancia 9 de Julio, por el alojamiento y colaboración en la logística durante las campañas. Sin su ayuda hubiera sido imposible.

A todo el personal del EGE e IEGEBA por la buena onda y dedicación. Por siempre ayudarme en todo lo que necesité. Me llevo muchos recuerdos lindos de ellos.

Dedicada a mi familia

CAPÍTULO 1

Introducción general

Los microorganismos se distinguen del resto de los organismos multicelulares por tres características principales: tamaños poblacionales grandes, tiempos generacionales cortos y una alta capacidad de dispersión (Dolan, 2005). Sin embargo, no todos los taxa están en todos los sitios en densidades considerables; en general, los ambientes donde se encuentran grandes abundancias de un organismo son aquellos en los cuales éste puede reproducirse satisfactoriamente. El paradigma más difundido sobre la biogeografía de microorganismos plantea que “todo está en todas partes, pero el ambiente selecciona” (Baas-Becking, 1934). Este concepto fue retomado más recientemente en varios trabajos (Finlay, 1998; Finlay, 2002; Fenchel y Finlay, 2004). Sin embargo, actualmente esta idea es objeto de controversias y existen algunos modelos alternativos tales como la “hipótesis del endemismo moderado” propuesta por Foissner (2006; 2008).

Un enfoque muy utilizado en estos últimos años para el estudio de gradientes ambientales involucra la incorporación de la diversidad beta, definida por Whittaker (1960) como la variación en la composición de especies entre sitios de un área geográfica. El estudio de sus patrones a diferentes escalas contribuye en gran medida a la descripción de la distribución de la biodiversidad. Las aproximaciones estadísticas más utilizadas que incluyen la diversidad beta se resumen en dos tipos principales: la partición canónica y el enfoque de Mantel. La primera comprende la división de la variación de la composición de una comunidad entre sus componentes ambientales y espaciales, y se aplica principalmente para probar hipótesis sobre el origen y del patrón de la variación entre sitios. El segundo involucra matrices de distancia y es apropiado para hipótesis relacionadas con el análisis de la diversidad entre grupos de sitios (Legendre et al., 2005).

A pesar de los abundantes trabajos publicados dedicados al estudio del fitoplancton de Patagonia, pocos se relacionan con la distribución biogeográfica de esta comunidad en una vasta extensión del territorio. Algunos trabajos han abordado estudios de la distribución geográfica de algas de agua dulce de Tierra del Fuego (ej. Tell, 1995), y otros han involucrado estudios a una mayor escala geográfica centrados en grupos algales particulares (Maidana et al., 2005; Tell et al., 2011). En lo que respecta a las comunidades planctónicas microbianas de Patagonia austral, los estudios de Schiaffino et al. (2011; 2013) constituyeron las primeras investigaciones en abordar el análisis de patrones en un amplio conjunto de lagos ubicados a lo largo de un gradiente latitudinal. En el primer trabajo mencionado se analizó el efecto de los factores ambientales y

geográficos sobre la estructura del bacterioplancton a través de estudios moleculares, mientras que el segundo abordó el análisis de las poblaciones picoplanctónicas en diferentes tipos de lagos mediante citometría de flujo.

En relación al metabolismo de los cuerpos de agua, los microorganismos constituyen la base de las tramas tróficas que allí se desarrollan, por lo tanto poseen una gran importancia en el flujo de la materia y energía en estos sistemas (Vernadskii, 1926; Wetzel et al., 1972; Pomeroy, 1974). En sentido amplio se definen dos vías principales de flujo de materia y energía, que en mayor o menor medida se encuentran acopladas: por un lado la vía tradicional conformada por el fitoplancton-zooplancton-necton, y por otro lado el modelo de bucle microbiano (Azam et al., 1983; Sherr y Sherr, 1988) que sintetiza la vía donde el carbono orgánico disuelto (COD) es transferido hacia los niveles superiores mediante su incorporación en la biomasa bacteriana y la predación por parte de organismos fagotróficos heterotróficos y mixotróficos. La predominancia de una u otra vía en la transferencia de energía dependerá del estado trófico y del contenido de COD en el cuerpo de agua (Jansson et al., 2000).

En particular, en lo que se refiere a la comunidad de protistas mixotróficos, éstos son organismos eucariotas que tienen la facultad de, además de realizar fotosíntesis, ingerir por fagocitosis materia orgánica como parte de sus recursos energéticos y nutricionales, y que pueden estar representados por un amplio rango de taxones que varían comúnmente entre 1 y 200 μm (Montagnes et al., 2008). La combinación de ambos modos de nutrición, fagotrófico y fototrófico, le brinda un amplio espectro de estrategias nutricionales que les permiten adaptarse a una gran variedad de condiciones ambientales (Sigeo, 2005). Las estrategias mixotróficas en protistas planctónicos van desde protistas que son primariamente heterotróficos pero que emplean la fototrofia sólo cuando las concentraciones de presas limitan el crecimiento heterotrófico (“protozoos” fotosintéticos), hasta protistas que poseen como principal modo de nutrición la fototrofia e ingieren eventualmente presas a una baja tasa para reunir requerimientos para el mantenimiento celular durante períodos en que los recursos son limitantes (“algas” fagotróficas) (Jones, 2000). Una manera esquemática de representar a los diferentes mixótrofos es mediante el posicionamiento de los taxa entre dos gradientes opuestos entre la autotrofia absoluta y la heterotrofia absoluta (Jones, 1994) (Fig. 1.1).

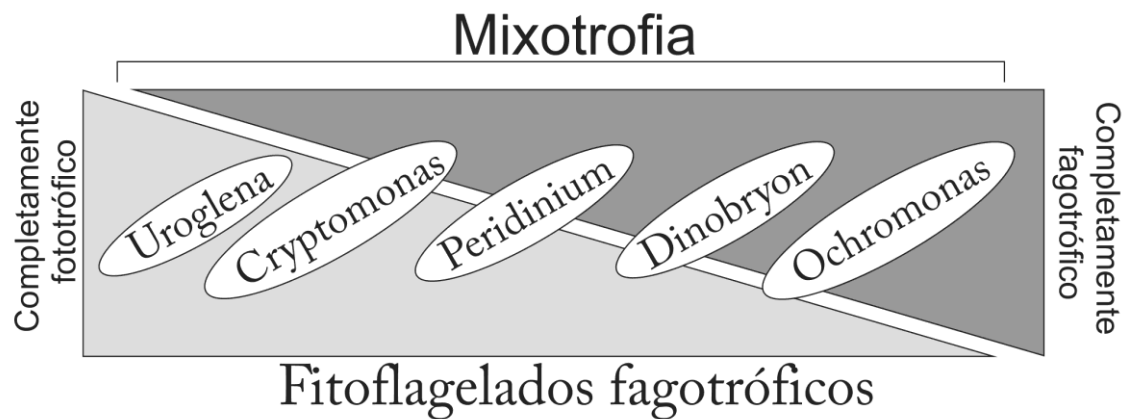


Figura 1.1: Representación esquemática del continuo de estrategias nutricionales entre los flagelados mixotróficos (adaptado de Jones 1994).

Las condiciones ambientales de los lagos, y en particular su estado trófico parecen influir en el desarrollo de las diferentes estrategias tróficas de las especies de fitoplancton mixotrófico. Sistemas de agua dulce con un alto suministro de nutrientes y sin limitación de luz proporcionan un buen escenario para el desarrollo de estas algas a expensas de fotosíntesis (Irigoien et al., 2005). En condiciones de bajos nutrientes, el comportamiento mixotrófico permite aprovechar la luz y las presas disponibles, lo que fue demostrado experimentalmente por Tittel et al. (2003) y Katechakis y Stibor (2006), quienes observaron que los mixótrofos dominan a los protistas estrictamente autótrofos y heterótrofos sólo en condiciones pobres de nutrientes.

Los estudios de esta tesis se llevaron a cabo en dos áreas de Patagonia austral que incluyen una gran variedad de ambientes acuáticos de agua dulce, los que han sido poco o nada explorados desde el punto de vista de sus tramas microbianas: la parte argentina de la Isla de Tierra del Fuego y la Meseta del Lago Strobel (Santa Cruz).

En Tierra del Fuego hay una gran variedad de cuerpos de agua (lagos oligotróficos, lagos húmicos, lagunas de estepa, diques de castores, lagunas distróficas) que fueron caracterizados desde el punto de vista limnológico por Mariazzi et al. (1987) y Conzono y Ulibarrena (2010). Los trabajos dedicados a las comunidades microbianas en esta región durante la primera mitad del Siglo XX fueron escasos y principalmente enfocados en taxonomía algal (ej. Borge, 1906; Frenguelli, 1924; Thomasson, 1955; 1957). Años después, varios estudios ampliaron el conocimiento florístico de esta

región, resultando en publicaciones dedicadas principalmente a grupos algales particulares (ej. Tell y Mosto, 1982; Guarrera, 1986; Vigna y Kristiansen, 1996). En lo que respecta a estudios ecológicos sobre el fitoplancton de ambientes acuáticos continentales de Tierra del Fuego, los únicos trabajos previos a esta tesis estuvieron centrados en el fitoplancton de turberas (Mataloni, 1994; Tell, 1995; Mataloni y Tell, 1996; Mataloni, 1999; González Garrasa et al., 2012).

El segundo sitio elegido corresponde a La Meseta del lago Strobel que está ubicada en al noroeste de la Provincia de Santa Cruz y alberga más de 1500 cuerpos de agua someros. Desde el punto de vista geológico está constituida por un lecho de basalto alcalino de un espesor de hasta 50 m que fue originado por actividad tectónica durante el Terciario y el Cuaternario (Panza y Franchi, 2002). De acuerdo a sus principales características limnológicas, los cuerpos de agua de esta región fueron clasificados por Lancelotti et al. (2009 a) en turbios de alta conductividad, pequeños vegetados, grandes vegetados y grandes sin vegetación. Principalmente las lagunas vegetadas constituyen el hábitat para muchas especies de aves acuáticas, incluyendo algunas que se consideran amenazadas, como el “Macá Tobiano” (*Podiceps gallardoi*), una especie endémica de la Patagonia austral (Lancelotti et al., 2010). Para la zona de la Meseta del lago Strobel, hasta el momento no existen estudios publicados de las fracciones menores del plancton. Si bien la región carece de especies de peces nativas, en los últimos años muchos lagos fueron sembrados con truchas, lo que ha creado incertidumbre acerca de los posibles efectos sobre el ecosistema en general, debido a un probable aumento de la biomasa fitoplanctónica como consecuencia del efecto en cascada (Lancelotti et al., 2009 b), y se presume que la población de “Macá Tobiano” se vería afectada por competencia y depredación por la introducción de esta especie exótica (Roesler et al., 2012).

Ambas regiones presentan una alta diversidad de ambientes acuáticos que, además de diferir en su morfología, muestran características contrastantes en relación al estado trófico y a la concentración de sustancias húmicas. El modelo postulado por Rhode (1969) y luego modificado por Williamson y Morris (1999) proporciona una útil y sencilla manera de clasificarlos: los lagos pueden ser dispuestos a lo largo de dos gradientes, un gradiente trófico (concentración de nutrientes) y un gradiente alotrófico (concentración de materia coloreada disuelta) (Fig. 1.2). Por lo tanto, en función de

estas variables se distinguen cuatro grupos principales: lagos oligotróficos, lagos distróficos, lagos eutróficos y lagos mixotróficos.

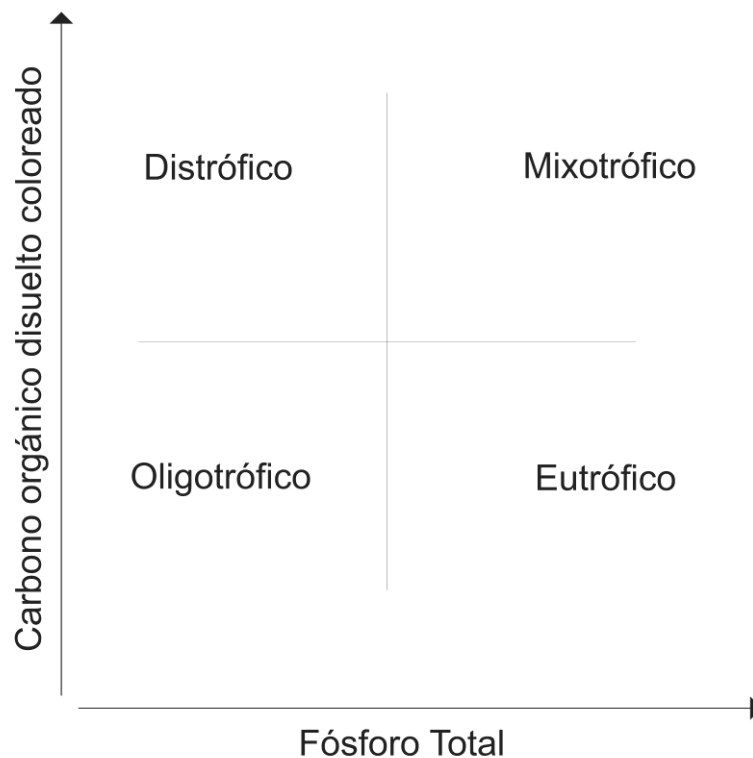


Figura 1.2: Diagrama conceptual que dispone 4 tipos de lagos en función del contenido de carbono orgánico disuelto coloreado y el fósforo total. (adaptado de Williamson y Morris, 1999).

En este contexto, el primer estudio de esta Tesis (**capítulo 3**) aborda el análisis del fitoplancton en lagos que se encuentran a lo largo de un gradiente latitudinal desde la Patagonia austral hasta la Antártida y que además conforman un gradiente de estado trófico. Se incluyeron las dos aproximaciones estadísticas anteriormente mencionadas, con el *objetivo* de evaluar en qué medida los factores espaciales y ambientales influyen en la diversidad del fitoplancton en esta región.

En los **capítulos 4 y 5** se abordó el análisis de numerosos cuerpos de agua de Patagonia Austral de las dos zonas seleccionadas anteriormente mencionadas (Strobel y Tierra del Fuego), analizándose sus principales características limnológicas conjuntamente con la estructura de sus comunidades planctónicas microbianas. El *objetivo* fue analizar comparativamente la estructura de las comunidades planctónicas en lagos que difieren

en: estado trófico, contenido de materia orgánica disuelta, régimen (claro vs. turbio), abundancia de macrófitas sumergidas, y presencia o ausencia de peces introducidos.

Finalmente en el **capítulo 6** se estudiaron en particular los ensamblajes de mixótrofos que se desarrollan a lo largo de un gradiente ambiental. A su vez se estudió en 4 lagos particulares, el comportamiento de bacterivoría de las especies mixótrofas dominantes. El *objetivo* de este capítulo fue relacionar el desarrollo de los distintos tipos de algas mixotróficas (primariamente autotróficas o primariamente heterotróficas) con las condiciones tróficas de los lagos y contenido de carbono orgánico disuelto en los mismos.

Las hipótesis específicas planteadas en cada uno de los estudios que conforman esta Tesis se indican en cada uno de los capítulos.

CAPÍTULO 2

Metodología general

Muestras y variables físicas y químicas

Se llevaron a cabo varias campañas en las que se recolectaron muestras en diferentes cuerpos de agua de Patagonia Austral. Las muestras que se analizaron en esta tesis fueron obtenidas entre 2007 y 2014, en la mayor parte de los casos en la época más calida (primavera tardía – verano).

La mayoría de los cuerpos de agua estudiados fueron poco profundos (menor o igual a 3 m), y por lo tanto en ellos las muestras se obtuvieron subsuperficialmente (30 cm superiores). En el caso de los lagos profundos (mayor a 3 m) se tomaron muestras integradas dentro de la zona eufótica, desde la superficie hasta 5 m.

En todos los cuerpos de agua se midieron *in situ* diferentes variables físicas y químicas. La temperatura, el pH y la conductividad se midieron con un sensor Horiba D-54, el oxígeno disuelto (OD) con un equipo HI 9146 Hanna Hatch o con un medidor portátil HQ30d. Estas variables fueron tomadas subsuperficialmente (30 cm superiores). La radiación fotosintéticamente activa (PAR) se midió también *in situ* y a intervalos de 10 cm de profundidad con un radiómetro LI-COR equipado con un sensor cuántico esférico sumergible (Li-193 SA Li-Cor PAR, NE, EE.UU). El coeficiente de atenuación vertical de PAR (K_d) se calculó como la pendiente de la relación entre \ln (irradiancia) y la profundidad (Kirk, 1994).

Las muestras para los análisis de nutrientes, estimación del color (sólo incluido en el capítulo 4), clorofía *a* (Chl *a*) y carbono orgánico disuelto (COD) fueron transportadas refrigeradas y se filtraron a través de filtros Whatman GF / F al regresar del campo para evitar su deterioro. Los análisis de nutrientes disueltos (nitrato, amonio y fósforo reactivo soluble-PRS) se realizaron *in situ* sobre el agua filtrada con un espectrofotómetro HachTMDR / 2800 y sus kits de reactivos correspondientes (límite de detección para todos los nutrientes 0.01 mg l^{-1}). El nitrógeno inorgánico disuelto (NID) se obtuvo sumando la concentración del nitrato y del amonio. El coeficiente de absorción a 320 nm (a_{320}), como una medida del color del agua, se midió con un espectrofotómetro sobre el agua filtrada. La concentración de Chl *a* (corregida por feopigmentos) fue estimada a partir del material retenido en el filtro, el cual fue preservado a -20°C y oscuridad hasta su procesado. Las extracciones de Chl *a* se realizaron utilizando etanol caliente ($60\text{-}70^\circ\text{C}$) y la lectura se realizaron al día siguiente

(almacenadas a 4°C) por espectrofotometría tomando las absorbancias a 665 y a 750nm. Se realizó la corrección por feopigmentos mediante la adición de HCl 1N. Los valores de concentración se obtuvieron considerando las ecuaciones dadas por Marker et al. (1980). El COD fue determinado a partir del agua filtrada y acidificada (pH menor a 2) con ácido sulfúrico y utilizando el método de oxidación catalítica Pt de alta temperatura (analizador TOC Shimadzu 5000A) siguiendo las recomendaciones de Sharp y col. (1993); las determinaciones fueron llevadas a cabo por los técnicos del Instituto Nacional del Agua en Ezeiza (Buenos Aires, Argentina).

Fitoplancton >2µm

Las muestras para el análisis cualitativo del fitoplancton (la fracción nano y microplanctónica) fueron tomadas con red de 15µm de poro, con el objetivo de concentrar los organismos y fueron fijadas con formaldehído al 2-3%. La observación se realizó bajo microscopio óptico binocular (Olympus CX31) a 1000 X de aumento, y las identificaciones se llevó a cabo siguiendo bibliografía especializada para cada grupo de algas. Las muestras para el análisis cuantitativo del fitoplancton fueron fijadas con una solución de lugol acidificado al 1%. Los recuentos de fitoplancton se realizaron utilizando un microscopio invertido Olympus CKX41 siguiendo la técnica de Utermöhl (1958), y el error de recuentos fue estimado según Venrick (1978). En todos los casos se consideraron las algas individuales como unidad (unicelular, colonia, cenobio o filamento). Los biovolúmenes individuales se calcularon utilizando fórmulas geométricas adecuadas de acuerdo a sus formas y las dimensiones medias de los organismos en las muestras (Hillebrand et al., 1999; Sun y Liu, 2003). Para los organismos coloniales se hicieron cálculos para toda la colonia incluyendo el mucílago. Las especies registradas en las muestras se clasificaron en grupos funcionales utilizando la clasificación de Reynolds et al. (2002), actualizada por Padisák et al. (2009). Las especies de fitoplancton fueron discriminadas en relación a sus principales estrategias tróficas, clasificándolas en dos grupos principales: especies principalmente autótrofas (las que no son capaces de ingerir presas), y especies mixotróficas (incluyendo en este grupo sólo las especies que son potencialmente fagotróficas); para realizar la clasificación de los taxones en estos dos grupos se consultaron varios trabajos publicados (ej. Urabe et al., 2000; Jones, 2000; Boechat et al., 2007; Unrein et al., 2007;

Raven et al., 2009; Unrein et al., 2010; Izaguirre et al., 2012; Unrein et al., 2014) que incluyen información sobre especies mixótrofas.

La información de los patrones de riqueza basada en la técnica molecular de huella genética DGGE (electroforesis en gel con gradiente de desnaturalización) que se presenta en el capítulo 3, fue utilizada con el fin de compararla con los patrones de biodiversidad basados en caracteres morfológicos y funcionales. Esta información fue obtenida y facilitada por las Dras. Irina Izaguirre y M. Romina Schiaffino. Este método se utiliza para recuperar las secuencias de los organismos dominantes en cada lago y los procedimientos detallados de la extracción de ADN, amplificación PCR, análisis de DGGE y secuenciación de las bandas se describen en artículos anteriores (Unrein et al, 2005; Schiaffino et al, 2011).

***Ciliados* (capítulos 4 y 5)**

La abundancia de ciliados se estudió con microscopio invertido de acuerdo a la técnica de Utermöhl (1958), en las muestras fijadas con lugol acidificado al 1%, y utilizando cámaras de 10 ml.

***Flagelados heterotróficos (FH)* (capítulos 4, 5 y 6)**

El análisis cuantitativo de los FH fue llevado a cabo mediante el uso de microscopio de epifluorescencia utilizando un microscopio Olympus (Olympus BX40F4, Tokio, Japón) con x1000 de aumento. Las muestras fueron preservadas mediante la adición de glutaraldehído filtrado (0,22 µm Millipore, MA, USA) frío 10% (concentración final 1%) y mantenidas en frío (4°C) hasta su filtrado. Las muestras fijadas se filtraron a través de un filtro negro de policarbonato de 0,8 µm de tamaño de poro y las células se tiñeron con DAPI (4, 6 diamidino-2-fenil-indol; 10 ug ml⁻¹ concentración final) siguiendo el procedimiento descrito por Porter y Feig (1980). Luego estos filtros fueron montados entre porta y cubreobjeto con aceite de inmersión apto para fluorescencia, y los preparados se almacenaron a -20 ° C hasta su análisis en el laboratorio. Para la cuantificación se utilizó la excitación UV y los filtros verde y azul para verificar la ausencia de pigmentos fotosintéticos.

Picoplancton

Las abundancias de bacterias heterotróficas totales, picocianobacterias (Pcy) y picoeucariotas (Peuk) fueron determinadas por epifluorescencia utilizando un microscopio Olympus (Olympus BX40F4, Tokio, Japón) con x1000 de aumento. Las muestras en este caso fueron fijadas y procesadas de igual manera que para los FH con la diferencia de que los filtros empleados eran de 0,2 μm de tamaño de poro. Los recuentos del bacterioplancton se realizaron mediante la excitación UV. Las Pcy y Peuk se contaron usando la luz azul y verde.

Citometría de flujo (capítulo 4 y 5)

El picoplancton autotrófico además fue cuantificado mediante través del uso de la técnica de citometría de flujo. Para esto, las muestras de cada cuerpo de agua fueron fijadas con glutaraldehído frío 10% hasta una concentración final de 1% y almacenadas en crioviales en nitrógeno líquido (durante las campañas) y luego en ultrafreezer a -80°C.

A las muestras fijadas descongeladas se les adicionó un volumen conocido con una suspensión de beads (Fluospheres® microesferas de carboxilato de 1 μm de diámetro = beads, yellow-green fluorescent 505/515, Molecular Probes) y luego fueron analizadas con el citómetro de flujo. Para todas las muestras se utilizó el citómetro FACSAria II del Servicio de Citometría, de la Secretaría de Investigación de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, que está equipado con un láser azul de estado sólido (488nm, >20mW) y un láser rojo de estado gaseoso (633nm, >18mW). Para el análisis de las poblaciones se utilizaron seis parámetros:

FL1 (FITC): fluorescencia verde luego de excitarse con luz azul (488 nm excitación, 530/30 nm BP emisión) - detecta organismos que fueron teñidos con SybrGreen I.

FL2 (PE): fluorescencia naranja luego de excitarse con luz azul (488 nm excitación, 585/42 nm BP emisión) - detecta la autofluorescencia de la ficoeritrina.

FL3 (PERCP): fluorescencia roja luego de excitarse con luz azul (488 nm excitación, 670 nm LP emisión) - detecta la autofluorescencia de la clorofila a.

FL4 (APC): fluorescencia roja luego de excitarse con luz roja (635 nm excitación, 661/61 nm BP emisión) - detecta la autofluorescencia de la ficocianina.

SSC: luz dispersada por la partícula en un ángulo de 90° - asociado a complejidad celular y en menor medida al tamaño.

FSC: luz dispersada en un ángulo menor a 10° - asociado al tamaño celular.

Las muestras generalmente fueron corridas por el aparato 300 segundos y con la información del set de detectores se diferenciaron las diferentes poblaciones. El análisis de los datos se llevó a cabo con el programa FlowJo (Tree Star).

Diversidad del bacterioplancton (CARD-FISH) (capítulo 4 y 5)

La diversidad del bacterioplancton heterotrófico en lagos seleccionados de cada región se estudió mediante la hibridación siguiendo técnica de Deposición Catalizada e Hibridación *in situ* con Sondas Fluorescentes (CARD-FISH - Catalyzed reporter deposition Fluorescence In Situ Hybridization). Para esto en cada lago las muestras fueron fijadas con formaldehído a una concentración final de 2%, las cuales fueron preservadas a 4°C y oscuridad hasta su inmediato procesado. Siguiendo la metodología descrita en Pernthaler (2004) se procedió al filtrado de un volumen conocido de estas muestras fijadas través de una membrana blanca de policarbonato de 0,2 µm de poro, la cual fue preservada - 20°C. Para iniciar el proceso de fijación de las células al filtro, se sumergió cada filtro en una solución de agarosa 0,1% y se dejó secar. Luego se cortaron los filtros en porciones rotuladas, cada una destinada a una sonda específica. El siguiente paso constituyó la permeabilización de las paredes bacterianas; para ello las porciones de filtros fueron incubadas en primer lugar durante una hora a 37°C con una solución de lisozima y luego por 30 minutos con una solución de acromopeptidasa (este paso es necesario en particular para la hibridación de actinobacterias). Luego se procedió a la hibridación específica de las porciones de filtros con las siguientes sondas específicas:

EUB338 I-III, hibrida la mayoría de las bacterias incluyendo Verrucomicrobia y Planctomycetes (Amann et al., 1990; Daims et al., 1999).

ALF968, específica para Alfaproteobacteria (Neef, 1997).

BET42a, específica para Betaproteobacteria (Manz et al., 1992).

GAM42a, específica para Gamaproteobacteria (Manz et al., 1992).

CF319a, específica para Citofaga-Flavobacteria-Bacteroidete (Manz et al., 1996).

HGC69a, específica para Actinobacteria (Amann et al., 1995).

Particularmente para las sondas BET42a y GAM42a se adicionaron además sondas competidoras entre sí para evitar que ocurra hibridación cruzada. La hibridación se llevó a cabo en un horno para este fin durante toda la noche a una temperatura de 37°C. Al día siguiente se procedió con pasos de lavado para quitar todas las sondas excedentes de los filtros. Finalmente se procedió a la amplificación de la señal de las sondas hibridadas a través de una reacción de acumulación de tiramida marcada que es activada enzimáticamente por la peroxidasa del rábano (HRP) que está unida a las sondas. Una vez concluida la reacción se procede a lavar y montar los filtros entre porta y cubreobjetos utilizando aceite de inmersión con DAPI (para teñir todas las bacterias presentes en los filtros). Estos preparados fueron preservados en freezer a -20°C. Los recuentos se realizaron con epifluorescencia utilizando un microscopio Olympus (Olympus BX40F4, Tokio, Japón) con x1000 de aumento. Las bacterias totales se contabilizaron con luz UV mientras que cada sonda en particular se contabilizó bajo luz azul. Los preparados de EUB338 I-III constituyeron un control de todo el proceso de hibridación y junto con los recuentos totales (bajo UV) se calculó la eficiencia de hibridación.

Experimentos de ingestión (capítulo 6)

Se llevaron a cabo experimentos de ingestión *in situ* a corto plazo en cuatro lagos, dos de Tierra del Fuego y dos de la meseta del Strobel con contenidos de nutrientes y DOC contrastantes: Lago Victoria (lago húmico) y Escondido (profundo claro) en abril de 2012; S94 (claro con vegetación) y Herradura (turbio con alta biomasa de fitoplancton) en febrero de 2013.

Las tasas de ingestión de los principales protistas fagotróficos en cada lago se estimaron utilizando Bacterias Fluorescentes (FLB) como presas. Las FLB fueron preparadas en el laboratorio de Biotecnología Bacteriana y Microbiología Ambiental de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA) con la colaboración de la Dra. Paula Tribelli y la Dra. Nancy Lopez. Las mismas fueron obtenidas a partir de una cepa de *Pseudomonas extremaustralis* (López et al., 2009) luego de tres días de cultivo en medio mínimo E2

suplementado con octanoato de sodio (Lageveen et al., 1988) y se tiñeron con DTAF al 25% (1,2 mg / ml de concentración final) siguiendo las recomendaciones de Sherr et al. (1987). Los ensayos fueron realizados en botellas de plástico de 1 litro de capacidad (microcosmos), a cada microcosmos se le agregó 1L de agua prefiltrada por una red de 55 μm de poro que había sido tomada de la zona eufótica de cada lago. Además, se le adicionó a cada botella las FLBs en una concentración total de alrededor del 18% de la densidad de la población de bacterias naturales. Los experimentos en cada lago se incubaron durante 90 minutos por triplicado alrededor del mediodía. Se tomaron submuestras de los microcosmos inmediatamente después de la adición de la FLB (T0), a los 15 (T1), 45 (T2) y 90 (T3) minutos después de la puesta en marcha del experimento. Cada submuestra se fijó con glutaraldehído frío al 10% (concentración final 2%) y fueron refrigeradas a 4°C. A continuación, 5 ml y 2 ml de cada muestra fue filtrada a través de un filtro de policarbonato negro de 0,8 μm y 0,2 μm de tamaño de poro, respectivamente, y se tiñeron con DAPI. Todos los recuentos se realizaron utilizando el microscopio de epifluorescencia (Olympus BX40) a X1000. Los fagótrofos se contaron en el filtro de 0,8 μm de poro, contando al mismo tiempo el número de FLB ingeridos. Las FLB libres y las bacterias totales se contaron en el filtro de poro de 0,2 μm . Para cada grupo de fagótrofos se contaron unas 50 células cuando fue posible (en taxones menos representado fue entre 20 y 30 células). Los filtros de 0,8 μm de tamaño de poro que correspondían a T0 se utilizaron para eliminar el sesgo de las FLB que se podrían haber contado como ingeridas y en realidad se encontraban en la superficie del fagótrofo. La tasa de ingestión de FLB de cada fagótrofo fue determinada de acuerdo a Šimek et al. (1995) a partir de la pendiente de la regresión lineal entre el promedio del número de FLB por fagótrofo y el tiempo (esta porción lineal en la mayoría de los casos fue desde T0 hasta T3 = 45 min). La tasa de clareado (TC) se obtuvo dividiendo la tasa de ingestión de FLB por la concentración FLB utilizada. La tasa de ingestión específica por célula (TIE) para cada protista se obtuvo luego de multiplicar la TC por la concentración de presas (bacterias naturales +añadidas) con el supuesto de que ambas presas fueron ingeridas en la misma proporción. El impacto de fagotrofia (IF) de cada población de fagótrofo se determinó multiplicando la TIE por la abundancia de cada fagótrofo. Los biovolúmenes medios de los fagótrofos y de las presas (naturales y añadidos) se estimaron a partir de mediciones de tamaño utilizando la cámara adjunta al microscopio (Infinity 1, Lumenera®) y el software de procesamiento de imágenes

(Infinity Software 6.0, Lumenera®), aplicando fórmulas de volumen según Hillebrand et al. (1999). Se midió un mínimo de 20 células para cada grupo en cada lago.

Análisis estadísticos

Para los análisis numéricos del estudio latitudinal (capítulo 3) se obtuvo la riqueza local de especies de fitoplancton (RL) para cada lago. Para todo el conjunto de datos se analizó su variación latitudinal desde la Patagonia hasta la Antártida por medio de regresiones simples. Se usó el coeficiente de correlación de Fisher transformado (r_z) para analizar la relación entre la riqueza de especies y la latitud (Rosenberg et al., 2000). La fuerza del gradiente es reflejada por r_z , mientras que la magnitud del gradiente es la pendiente de la regresión lineal de la diversidad con la latitud (Hillebrand, 2004). Se analizó también la riqueza regional de especies (RR) a lo largo del gradiente latitudinal. La escala regional fue definida para grillas latitudinales de aproximadamente $1^\circ \times 1^\circ$. La diversidad beta es una medida del cambio en la composición de especies entre las muestras a lo largo de la transectas o a través de gradientes ambientales (Magurran, 2008), y la misma se obtuvo como el cociente entre RR y RL (Soininen, 2010). Por otro lado, se calculó el índice de diversidad de Shannon-Weaver (H) y la equitatividad de Pielou para cada lago (Jost, 2010). Se calculó la similitud inicial (similitud a la distancia de 1 km) según Soininen et al. (2007). Luego se analizó el decaimiento de la similitud en la composición del fitoplancton con la distancia para las dos regiones principales del gradiente latitudinal: Patagonia y Antártida. La similitud fue medida mediante el índice de Sorensen para luego calcular la distancia a la cual la similitud disminuye a la mitad o “halving distance” (Soininen et al., 2007).

En el estudio latitudinal (capítulo 3) y regional (capítulos 4 y 5) se aplicaron diferentes análisis multivariados: Análisis de Correspondencia Canónica (CCA) o Análisis de redundancia (RDA) para explorar los factores que controlan la estructura del fitoplancton en los lagos. La elección de la CCA o RDA en cada caso estuvo basada en un Análisis de Correspondencias Destendenciado (DCA) previo: cuando la respuesta de los datos biológicos fue unimodal se utilizó el CCA, y cuando fue lineal se utilizó un RDA. Para todo el conjunto de datos de los lagos primero se realizó un CCA basado en la abundancia de especies y las variables ambientales. Por otro lado, se aplicó un RDA para analizar la relación entre la abundancia de los grupos funcionales de fitoplancton y los factores ambientales (Reynolds et al., 2002). Los análisis se realizaron con el

software CANOCO (ter Braak, 1991). La significancia estadística del primer eje y de todos los ejes se probaron mediante una prueba de permutación de Montecarlo, y la importancia de cada variable se evaluó mediante la selección “forward”. Para el análisis multivariado se excluyeron las especies cuya contribución era menor del 10% de la abundancia total de fitoplancton en todos los lagos.

Por otra parte, para analizar la importancia relativa de factores ambientales no espaciales y los factores espaciales en el análisis latitudinal (coordenadas geográficas) se empleó un procedimiento de partición canónica (Borcard et al., 1992). Toda la variación de la matriz de la composición del fitoplancton se particionó en: variación ambiental no espacial (solo ambiente), variación espacial que no es compartida por las variables ambientales (solo espacial), la variación ambiental espacialmente estructurada (Medio Ambiente + Espacio) y la variación no explicada y fluctuaciones estocásticas. La significancia de estos componentes se evaluó con una prueba de permutación de Montecarlo. Se utilizó un CCA parcial ya que la respuesta fue unimodal, y los cálculos se realizaron con el software CANOCO (ter Braak, 1991).

La matriz para el análisis de la diversidad a partir de los datos moleculares (que como se mencionó anteriormente fueron datos facilitados por las Dras. Izaguirre y Schiaffino) se construyó teniendo en cuenta la presencia o ausencia de bandas individuales de DGGE en todas las calles del gel, y la intensidad relativa de cada banda en comparación con la intensidad total de la banda en el carril. Se analizó la variación latitudinal en el número de bandas (OTUs) a lo largo del gradiente, que se asume como la riqueza nanoplanctónica eucariota dominante. La correlación entre la riqueza de la banda y latitud también se analizó mediante el coeficiente de correlación transformado de Fisher (r_z). La matriz de las bandas de DGGE se analizó en conjunto con una matriz de los datos ambientales y espaciales utilizando CCA, siguiendo el mismo procedimiento descrito anteriormente.

Para analizar las estrategias tróficas de las especies de fitoplancton dominantes estudiadas en el gradiente y a nivel local (capítulo 4), se realizó una regresión simple entre el cociente de las abundancias de las especies básicamente autótrofas (no pueden realizar fagotrofia) y los mixótrofos (especies fagotróficas) con la Chl *a* (como indicador de estado trófico del lago). La significancia de la regresión fue probada

aplicando el modelo de regresión funcional de tipo II por medio de un análisis de la varianza (Zar, 2010).

A su vez la similitud de la estructura del fitoplancton en las dos regiones seleccionadas en los cuerpos de agua se evaluó primeramente mediante un análisis de conglomerados basado en la abundancia de las especies, utilizando el índice de Bray-Curtis y el promedio pareado no ponderado (UPGMA) con el software SPSS 15.0.1 (Statsoft, Tulsa, OK, EE.UU.).

Con el fin de corroborar los agrupamientos basados en características físicas y químicas realizados en los ambientes de la Meseta del Strobel (capítulo 4) y en las dos regiones en conjunto (capítulo 5) se realizó un análisis discriminante (AD) seguido de un análisis de la varianza multivariado (MANOVA) con el fin de corroborar la homogeneidad de estos grupos. En estos análisis fueron incluidas variables físicas y químicas: k_d , conductividad, nitrógeno inorgánico disuelto (NID), fósforo reactivo disuelto (FRD), carbono orgánico disuelto COD), así como la clorofila *a* fitoplanctónica (Chl *a*) como otro proxy del estado trófico de los lagos. Se aplicó una transformación logarítmica a las variables para cumplir los supuestos de normalidad multivariada e igualdad de covarianzas.

Para evaluar las diferencias entre las abundancias de las diferentes comunidades entre los diferentes tipos de lagos (capítulo 5) se llevaron a cabo el análisis de la varianza no paramétrico Kruskal-Wallis con análisis de U de Mann-Whitney para efectuar los contrastes, ya que no se cumplieron los supuestos de normalidad y homocedasticidad. Para probar diferencias entre los diferentes índices estimados a partir de los experimentos de ingestión (capítulo 6) se aplicaron análisis de la varianza (ANOVA) y test de Tukey para efectuar los contrastes. Previamente se corroboraron los supuestos de normalidad y homocedasticidad con los test Shapiro Wilk y Levene respectivamente. Todos estos análisis fueron llevados a cabo con el software IBM SPSS Statistics 20.

CAPÍTULO 3

**La importancia de factores ambientales y espaciales en la
diversidad del fitoplancton en lagos a lo largo de una
transecta latitudinal de 2150 km
(Patagonia Austral – Antártida)**

Introducción

Desde el siglo XVIII los naturalistas se han interesado en el estudio de la distribución de las especies y su coexistencia en diferentes hábitats; sin embargo la biogeografía de los macroorganismos ha recibido mucha más atención que la de los microorganismos. Recién en las últimas décadas, los estudios sobre la biogeografía microbiana, con el apoyo de herramientas moleculares, permitieron un conocimiento más profundo de la diversidad microbiana, dando lugar a grandes avances en este campo de la ciencia (ej. Martiny et al., 2006; Soininen, 2012). Aunque no existe una definición universal de "microorganismos", se acepta que el término abarca desde las bacterias a los organismos microscópicos eucariotas (como microalgas, flagelados heterotróficos, ciliados). Sus principales características ecológicas (alto tamaño poblacional, corto tiempo generacional y alta dispersión), determinan que los factores históricos sean menos importantes que los factores biológicos y físicos en la biogeografía microbiana (Dolan, 2005). Como se mencionó en el primer capítulo, la hipótesis desarrollada por Baas-Becking (1934) - "todo está en todas partes, pero el ambiente selecciona"- fue defendida en una serie de publicaciones (por ejemplo, Finlay, 1998; Finlay, 2002; Fenchel y Finlay, 2004), haciendo hincapié en el cosmopolitismo de los microorganismos (modelo ubicuidad). Sin embargo, a pesar de que la evidencia actual parece confirmar que la selección del medio ambiente es en parte responsable de la variación espacial de la diversidad microbiana, muchos estudios recientes cuestionan la idea de que "todo está en todas partes" (Martiny et al., 2006). En este sentido, otro modelo propuesto por Foissner (2006; 2008), más conocido como "modelo de endemidad moderada", postula que aproximadamente un tercio de los protistas de vida libre presentaría una distribución geográfica restringida.

En particular, en lo que respecta a los estudios sobre la biodiversidad de microalgas, algunos problemas relacionados a la definición de especies dificultan la interpretación de los patrones biogeográficos en estos organismos (Coesel y Krienitz, 2008). De acuerdo con el concepto morfológico de especie, grupos de organismos morfológicamente idénticos se consideran como de una misma especie (Futuyma, 1998). Sin embargo, hay muchas especies morfológicamente similares pero genéticamente diferentes (especies crípticas) cuya distribución puede variar, lo que fue confirmado a partir de análisis moleculares (ej. de Darling et al, 2004; Saez y Lozano,

2005). Además, otro problema que dificulta obtener datos fiables sobre la biogeografía de las algas es el submuestreo, ya que las especies “raras” pueden ser pasadas por alto en los análisis. Además, muchas especies pueden estar en un estado latente en espera de condiciones favorables para convertirse en activas (Foissner, 2008). Los métodos moleculares basados en la amplificación y secuenciación de genes del ARN ribosomal de la subunidad 18S han revelado una sorprendente diversidad de eucariotas microbianos (Epstein y López-García, 2008 y citas allí mencionadas). Por otro lado, atributos tradicionales de la comunidad, tales como la riqueza de especies pueden complementarse con variables basadas en atributos funcionales de las comunidades (Petchey et al., 2004). La diversidad funcional ha recibido un gran interés ya que proporciona información clave que une la función del ecosistema y la biodiversidad (ej. Schmera et al., 2009). La relación positiva entre el funcionamiento de los ecosistemas y la riqueza de especies a menudo se atribuye al mayor número de grupos funcionales (Magurran, 2008). Diferentes clasificaciones funcionales se utilizaron para analizar las comunidades de fitoplancton de grandes conjuntos de datos de lagos. Por ejemplo, Kruk et al. (2010) utilizaron una clasificación de fitoplancton basada en rasgos morfológicos simples y analizaron más de 200 lagos situados en zonas climáticas que van desde la subpolar a la tropical; los resultados mostraron que esta clasificación describió gran parte de la variabilidad en las propiedades funcionales entre los grupos del fitoplancton. Las ventajas y desventajas de diferentes clasificaciones funcionales fitoplanctónicas se han analizado en trabajos recientes (Izaguirre et al., 2012; Salmaso et al., 2014).

Un aspecto que ha recibido una gran atención en la biogeografía ecológica es la variación latitudinal de la biodiversidad (ej., Rosenzweig, 1995; Gaston, 2000; Willig et al., 2003). Si bien el patrón más común es la disminución de la riqueza con el aumento de la latitud (con algunas excepciones), se ha reconocido que los patrones pueden depender de la escala espacial y la jerarquía taxonómica, es decir, especies, géneros, familias, etc. (Willing et al., 2003 y citas allí mencionadas). Hillebrand (2004) realizó un meta-análisis con más de 600 gradientes latitudinales obtenidos de la literatura, corroborando que el descenso latitudinal en la diversidad es un fenómeno ubicuo, pero observó que en ambientes acuáticos continentales los gradientes eran más débiles y menos pronunciados. Este estudio también mostró que los gradientes a escalas regionales fueron significativamente más fuerte y más pronunciados que en las escalas locales.

Además del interés por los gradientes de diversidad local (diversidad alfa), en las últimas décadas se ha producido un aumento de investigaciones centradas en el recambio en la composición de especies de las comunidades (diversidad beta) en el espacio y el tiempo. Soininen (2010) examinó el recambio de especies a lo largo de gradientes abióticos y bióticos, y concluyó que el gradiente latitudinal de recambio de especies depende de la escala tanto espacial como temporal. En extensiones chicas, el recambio parece ser más rápido en los trópicos, pero el patrón se invierte en extensiones más amplias, donde ocurre una aceleración del recambio hacia los polos. A lo largo de la distancia geográfica, el decaimiento de la similitud en las comunidades puede estar asociado a procesos comunitarios basados en diferencias de nichos bajo diferentes condiciones ambientales, configuración espacial del paisaje y teoría neutral debido a la limitada dispersión de los organismos (Soininen et al., 2007 y citas allí mencionadas).

Varios estudios se dedicaron a dilucidar el papel de los factores espaciales y ambientales en la biodiversidad de las comunidades acuáticas. Por ejemplo, Beisner et al. (2006) comparó el papel de estos factores en la estructuración de diferentes comunidades, desde las bacterias hasta los peces, y llegó a la conclusión de que en las especies menos móviles (zooplancton y peces) la diversidad era mejor explicada por factores espaciales, lo que no ocurría en bacterias y fitoplancton (que tienen alta dispersión). De acuerdo con estos hallazgos, Mazaris et al. (2010) propusieron que la biogeografía de macroorganismos se ve afectada principalmente por la distancia geográfica, mientras que la de los microorganismos, cuya dispersión es pasiva, está determinada principalmente por las condiciones ambientales locales. Sin embargo, aun hoy en día, la importancia relativa de los factores espaciales (ej. distancia entre ambientes, latitud, longitud) y ambientales (ej. variables físicas y químicas, estado trófico) en la conformación de la diversidad del fitoplancton es cuestión de debate. Algunos estudios previos encontraron que los factores ambientales locales fueron los principales (ej. Vanormelingen et al., 2008; Mazaris et al., 2010; Lopes et al., 2011), mientras que otros estudios en cambio mostraron que tanto los factores espaciales como los ambientales eran importantes en la estructuración de la comunidad (Soininen et al., 2007a). No obstante, otros autores informaron que ni el medio ambiente ni los factores espaciales explica una proporción significativa de la variación total en la estructura del fitoplancton (Beisner et al, 2006; Nabout et al, 2009). Se ha postulado que la

importancia de los factores geográficos sería más fuerte en escalas espaciales más grandes (ej. Soininen, 2012).

En este capítulo se analizó el fitoplancton de 60 lagos situados a lo largo de un gradiente latitudinal desde la Patagonia Austral (45° S) hasta la Antártida (63° S), con el objetivo de determinar los principales factores que influyen en la estructura de la comunidad. También se cubrió un gradiente de condiciones tróficas, incluyendo ambientes que van desde oligotróficos a eutróficos. La diversidad del fitoplancton se estudió utilizando un enfoque polifacético (composición basada en la morfología de las especies, grupos funcionales, y de la diversidad molecular eucariota dominante).

Se postularon las siguientes **hipótesis: 1)** La riqueza de especies de fitoplancton en lagos disminuye al aumentar la latitud. **2)** La estructura del fitoplancton se ve influenciada tanto por factores geográficos como ambientales.

Área de estudio

Se obtuvieron muestras en 60 cuerpos de agua situados a lo largo de una transecta latitudinal de 2.150 kilómetros cubriendo 18° de latitud desde la Patagonia Austral (Argentina) a la Península Antártica (Fig. 3.1).

Los lagos patagónicos están incluidos en dos limno-regiones principales: Patagonia Andina y Meseta Patagónica (Quirós y Drago, 1999). Los lagos de la región andina son mayoritariamente profundos, extensos y varían de ultraoligotróficos a oligotróficos; la mayoría de ellos se formaron por procesos glaciales y tectónicos. Los lagos de la meseta de la Patagonia son menos profundos y van desde mesotróficos a eutróficos. En el extremo sur de la Patagonia insular (Tierra del Fuego) algunos lagos cerca de las montañas comparten las características típicas de los lagos andinos, otros se encuentran en la región de estepa de la isla y son poco profundos y varían de meso a eutróficos; finalmente, otro grupo de ambientes son típicamente lagos húmicos por presentar un gran desarrollo de musgos en su lecho. Las principales características geológicas y climáticas de las regiones patagónicas fueron descritas en los trabajos de Schiaffino et al. (2011) y Tell et al. (2011).

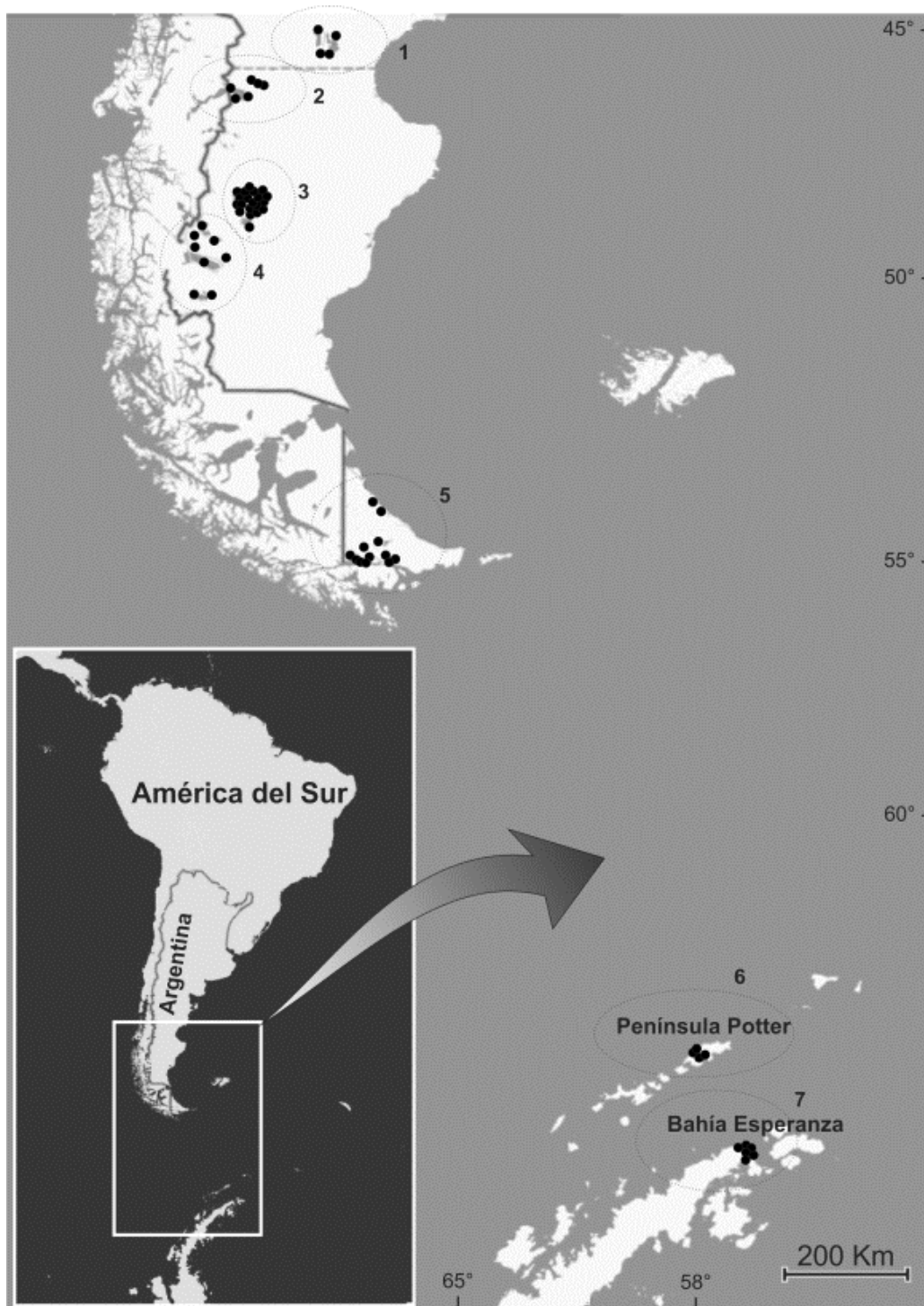


Figura 3.1: Posición geográfica de los lagos estudiados a lo largo de una transecta Patagónica-Antártica: 1) lagos de estepa de la Pcia. De Chubut; 2) lagos del NO de Santa Cruz; 3) lagos de la Meseta del Strobel; 4) lagos al SO de Santa Cruz; 5) lagos de Tierra del Fuego; 6) lagos de la Península Potter, Isla King George; 7) lagos de Bahía Esperanza, Península Antártica.

A lo largo de este gradiente se seleccionaron lagos con diferente estado trófico y morfometría con el fin de cubrir la variabilidad dentro de cada región. De acuerdo con su contenido de clorofila *a* (Chl *a*), los lagos variaron de oligotróficos a eutróficos (Tabla 3.1).

Tabla 3.1: Estado trófico de los lagos estudiados y sus correspondientes rangos de nutrientes y clorofila *a*. PRS: fósforo reactivo soluble, NID: nitrógeno inorgánico disuelto (nitrato + nitrito + amonio). Datos reunidos de varias campañas de muestreo.

Estado trófico	NID (mg l⁻¹)	PRS (mg l⁻¹)	Clorofila <i>a</i> (μg l⁻¹)	Tipo de ambiente
Oligotrófico a mesotrófico	0,04-0,31	0,02-1,39	≤2,9	PATAGONIA 15 lagos profundos
				10 lagos someros ANTÁRTIDA 8 lagos someros
Mesotrófico	0,3-0,42	0,04-0,3	3-9,9	PATAGONIA 10 lagos someros ANTÁRTIDA 1 lago somero
Eutrófico	0,05-0,28	0,10-15,8	≥10	PATAGONIA 1 lago somero grande 14 lago somero ANTÁRTIDA 1 lago somero

En la Antártida se muestrearon lagos en dos zonas diferentes: Península Potter en la isla 25 de Mayo (King George) y Bahía Esperanza en la Península Antártica. Los lagos en ambos ambientes son poco profundos y varían de oligotróficos a eutróficos (Izaguirre et al., 1998; Izaguirre et al., 2003; Vinocur y Unrein, 2000), en función de la influencia de los animales marinos a los que se ven sometidos.

Las muestras se obtuvieron en varias campañas de muestreos entre los años 2004 y 2012. En la Antártida los lagos fueron muestreados durante el verano austral (enero a marzo), mientras que en la Patagonia a fines de primavera (octubre a noviembre) cuando los lagos suelen estar bien mezclados (Baigún y Marinone, 1995). Cabe señalar

que los muestreos se llevaron a cabo en el marco de diferentes proyectos dirigidos por mi directora la Dra. Izaguirre, con la colaboración de otros miembros del grupo, y en lo personal yo participé en las campañas de las mesetas de Santa Cruz y Tierra del Fuego.

La metodología de toma y procesamiento de muestras, así como los métodos multivariados utilizados se describieron en el capítulo 2 de esta tesis.

Resultados

Variables ambientales

Desde el oeste al este de la Patagonia los lagos exhiben un gradiente de estado trófico. Cerca de los Andes, como se observa en la Tabla 3.2 los lagos profundos son en su mayoría oligotróficos con bajos valores de K_d y baja conductividad. En esta zona también fueron muestreados algunos lagos poco profundos que presentan condiciones mesotróficas con valores medios de $Chl\ a$ y K_d . Hacia el este, los lagos esteparios (Meseta Patagónica) representan los lagos más eutróficos del conjunto de datos, con los valores más altos de $Chl\ a$ y nutrientes disueltos. Algunos de ellos también se caracterizan por presentar altas conductividades. En la Patagonia insular (Tierra del Fuego), además de tomarse muestras en lagos profundos oligotróficos y lagos eutróficos someros, también fueron muestreados lagos y lagunas que presentan condiciones oligotróficas y húmicas, con valores de clorofila bajos y aguas coloreadas debido al alto contenido de COD de origen alóctono. Por último, los lagos antárticos estudiados son someros y la mayoría de ellos varían entre oligotrófico y mesotróficos; sin embargo, algunos lagos particulares muestran una eutrofización natural debido a la entrada de nutrientes derivados de colonias de pingüinos aledañas. Los rangos de las variables físicas y químicas y los valores medios de las diferentes regiones se resumen en la Tabla 3.2.

Tabla 3.2: Valores promedios y rangos de clorofila a y variables físicas y químicas medidas en los diferentes grupos de lagos en el período del estudio. NID: nitrógeno inorgánico disuelto (nitrato + nitrito + amonio). PRS: fósforo reactivo soluble. COD: carbono orgánico disuelto. Kd: coeficiente de atenuación vertical PAR.

	Lagos Profundos Andinos	Lagos Someros Andinos	Lagos de la Meseta / Estepa Patagónica	Lagos Húmicos y Lagunas de Tierra del Fuego	Lagos Antárticos
Temperatura	7,68	11,38	15,42	8,64	2,07
(°C)	4,50-10,0	6,9-15,6	10,0-27,0	6,1-13,4	0-8,40
pH	7,34	7,36	8,46	7,37	6,73
	6,70-8,0	6,27-8,2	7,84-9,38	6,5-8,14	6,15-8,0
Conductividad	100,28	212,4	2143,10	343,94	257,07
($\mu\text{S cm}^{-1}$)	20-210	50-610	78,80-25800	54,90-1284	19,30-1860
Oxígeno disuelto	11,12	10,53	10,36	9,99	15,05
(mg l^{-1})	9,30-11,90	8,1-12,67	8,10-14,90	7,7-10,97	5,19->16
Clorofila a	0,29	2,67	12,41	0,372	2,89
($\mu\text{g l}^{-1}$)	0,10-1,02	0-11,32	0,11-56,60	0,29-0,51	0,22-17,49
NID	0,09	0,11	0,14	0,0784	1,75
(mg l^{-1})	0,04-0,17	0,03-0,17	0,02-0,71	0,041-0,13	0,015-16,80
PRS	0,09	0,30	1,56	0,058	1,56
(mg l^{-1})	0,02-0,25	0,02-0,96	0,05-15,80	0,03-0,08	0,01-15,00
COD	6,16	8,3	37,34	14,32	4,71
(mg l^{-1})	4,00-9,30	6,1-11	5,40-211,60	6,9-24,8	0,38-41,90
Kd	0,70	1,48	3,53	2,20	0,59
(m^{-1})	0,09-1,61	0,49-3,06	0,00-28,52	0,79-3,29	0,13-1,24

*Análisis de diversidad basada en determinaciones morfológicas**Diversidad de especies*

A partir de los estudios microscópicos, para el conjunto de lagos analizado fueron identificadas 321 especies de fitoplancton (véase la composición del fitoplancton en la tabla anexa 1).

El análisis latitudinal de la diversidad (Fig. 3.2 a, b) mostró que tanto la riqueza de especies de fitoplancton local como la regional mostraron un patrón de disminución significativa con la latitud ($p < 0,05$), pero la disminución regional fue más fuerte que el gradiente local ($R^2 = 0,188$ para la LSR; $R^2 = 0,487$ para RSR). Por el contrario, no se observó una clara tendencia latitudinal en la equitatividad.

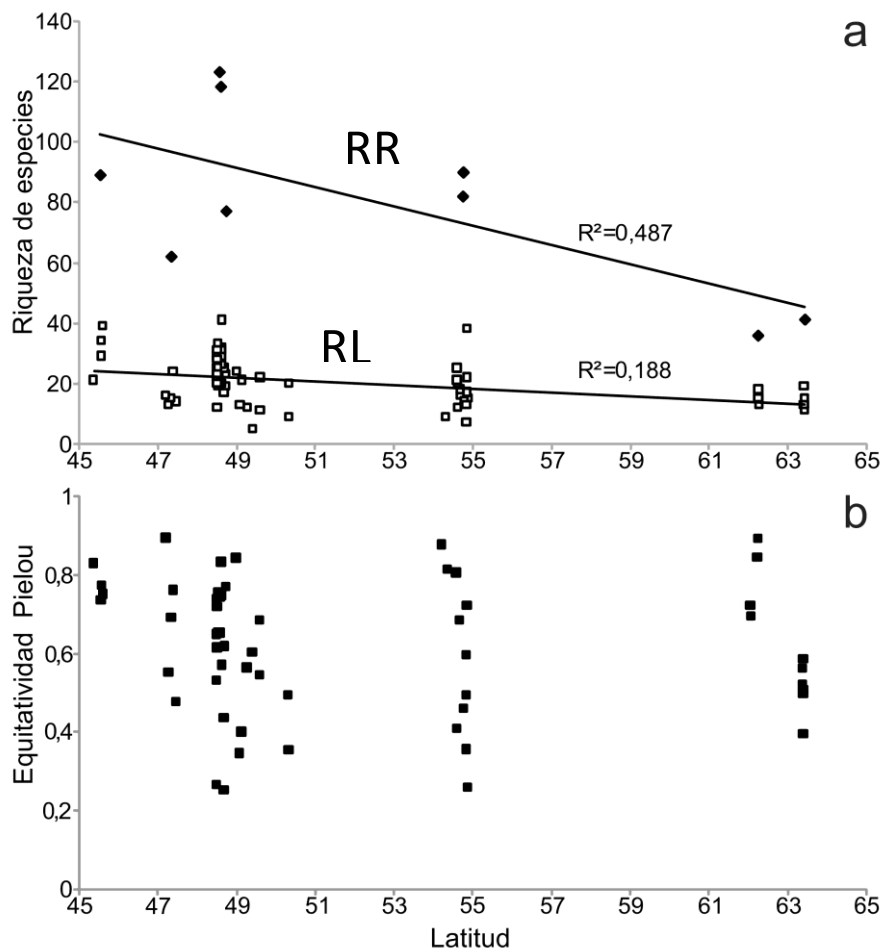


Figura 3.2: a) Variación latitudinal de la riqueza específica regional (RR) y riqueza específica local (RL) a lo largo del gradiente estudiado. RL corresponde a lagos individuales. b) variación latitudinal del índice de equitatividad de Pielou a lo largo del gradiente.

La riqueza de especies mostró una correlación inversa significativa con la latitud ($r_z = -0,54$; $p < 0,05$). El decaimiento de la similitud para ambas regiones se muestra en la figura 3.3, donde los parámetros de las regresiones son: $R^2 = 0,14$, pendiente = $-0,0012$; $p = 0,046$ (Patagonia); $R^2 = 0,91$, pendiente = $-0,0023$, $p < 0,0001$ (Antártida).

Comparando las dos regiones principales del gradiente estudiado (Patagonia y Antártida), se encontró que la similitud inicial fue mayor en la Antártida (0,59) que en la Patagonia (0,28). Por el contrario, la distancia a la que se reduce a la mitad la similitud inicial (“halving distance”) fue menor para los lagos antárticos (129,7 kilómetros) que para los lagos de la Patagonia (156,6 kilómetros) (Fig. 3.3).

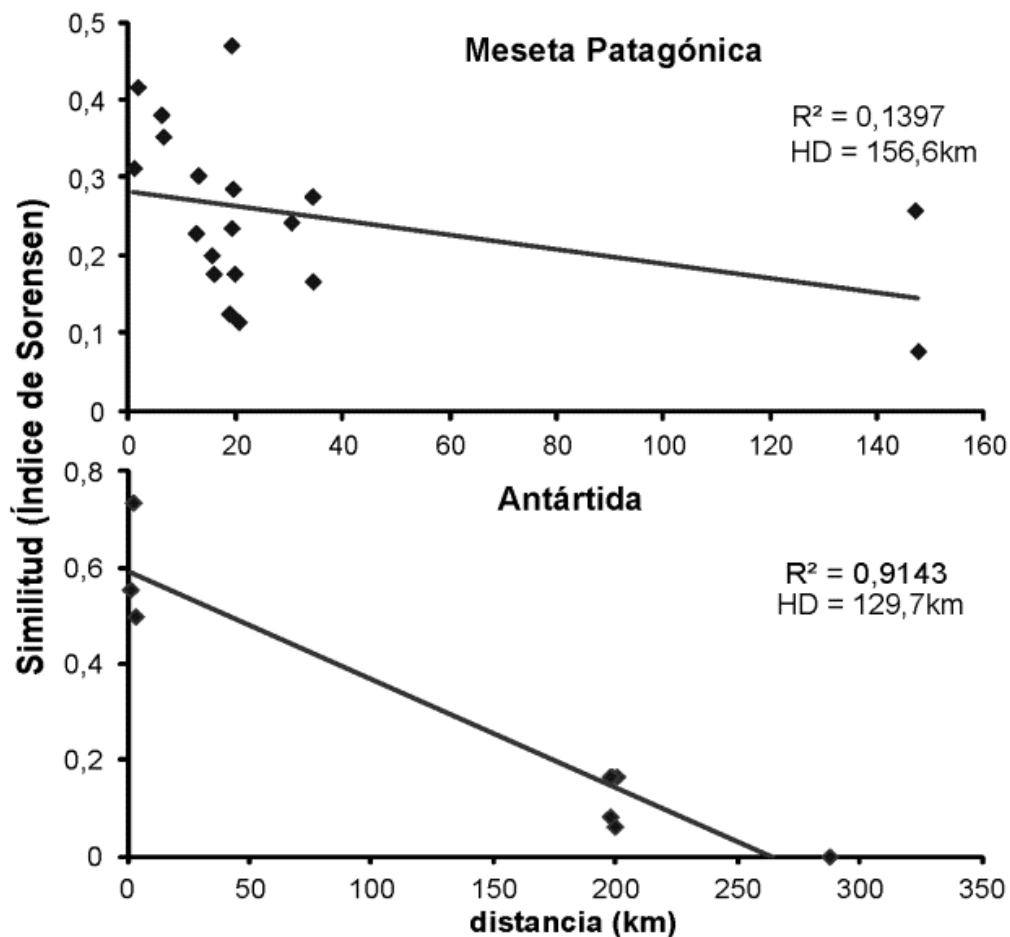


Figura 3.3: Decaimiento de la similitud con la distancia para las dos regiones principales del gradiente de lagos: a) Meseta patagónica; b) Antártida. HD: halving distance.

En la figura 3.4a se muestra el biplot (muestras y variables ambientales) que corresponde al CCA basado en la abundancia de fitoplancton en relación con las variables ambientales. Los dos primeros ejes explicaron el 49,8% de la varianza total (eje 1: 31,7%; eje 2: 18,1%). El primer eje se correlacionó principalmente con la temperatura y el pH (coeficientes de correlación intra-set: -0,90 y -0,87, respectivamente). El segundo eje estuvo definido principalmente por la conductividad (coeficiente de correlación intra-set: 0,83). Las pruebas de Monte Carlo fueron significativas para todos los ejes canónicos ($p < 0,008$). Este análisis mostró una ordenación de los lagos de acuerdo a su posición geográfica y el estado trófico. Los lagos antárticos (círculos blancos) están ordenados en la parte derecha de la figura, hacia mayores concentraciones de oxígeno disuelto (DO) y valores bajos de temperatura y de pH. Siguiendo este gradiente se ubican la mayoría de los lagos patagónicos oligotróficos, incluyendo los grandes lagos profundos y lagos húmicos (círculos grises). Por otro lado, la mayoría de los lagos mesotróficos y eutróficos poco profundos de la estepa patagónica (círculos negros) están ordenados en la parte izquierda de la figura (mayor temperatura y valores de pH), o en la parte superior de la gráfica (mayor conductividad).

Por otro lado se realizó el mismo análisis, pero incluyendo las coordenadas geográficas, latitud y longitud, y excluyendo la temperatura (Fig. 3.4b) ya que esta variable está altamente correlacionada con la latitud ($r=0,8$, $p<0,001$). En este caso los dos primeros ejes explicaron el 44,2% de la varianza (eje 1: 28,2%; eje 2: 16,0%), y también la prueba de Monte Carlo fue significativa para todos los ejes canónicos ($p < 0,006$). Este análisis pone de manifiesto que el primer eje estuvo principalmente correlacionado con las coordenadas geográficas; los coeficientes de correlación intra-set fueron 0,85 para la latitud y -0,85 para la longitud. La ordenación de los lagos fue similar a la obtenida con la temperatura y sin las coordenadas geográficas. Está claro que la temperatura es la variable más importante involucrada en el gradiente de la latitud, mientras que el estado trófico de los lagos estudiados está relacionado con la distancia a la cordillera, que se ve reflejado por la longitud (excepto para los lagos de Tierra del Fuego donde la cordillera se encuentra más hacia el Este).

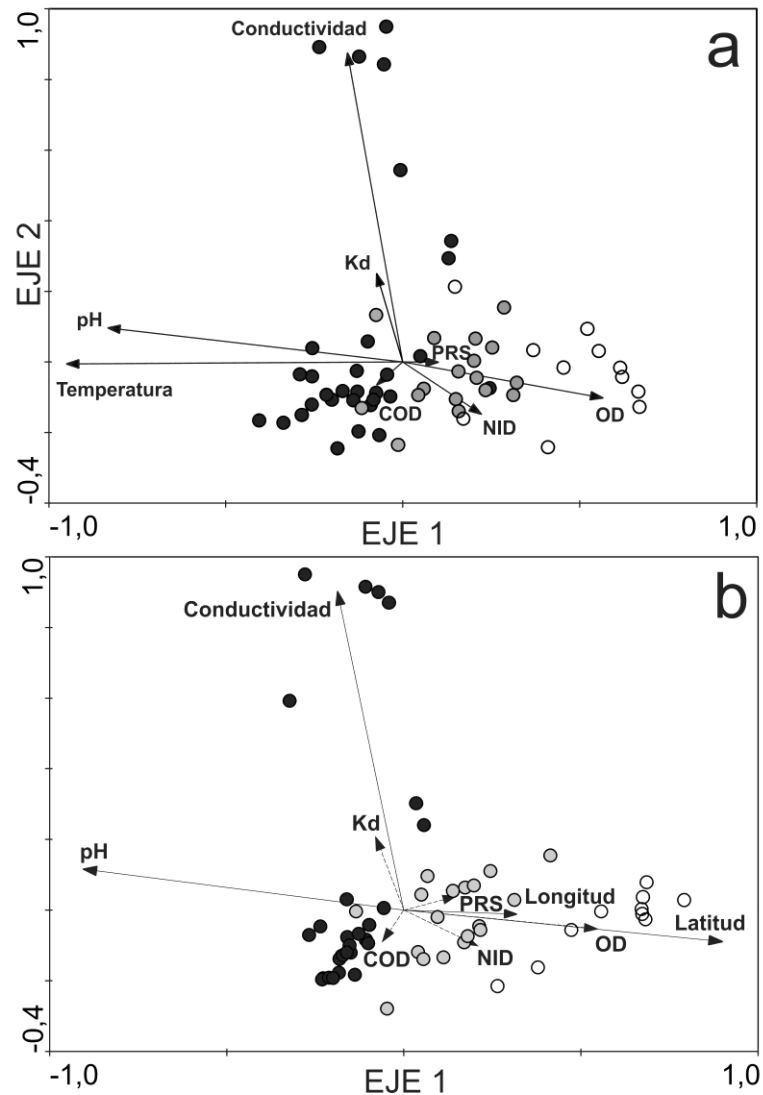


Figura 3.4: a) Biplot (muestras y variables ambientales) del CCA basado en la abundancias de especies de fitoplancton. b) Biplot (muestras y variables ambientales) del CCA basado en la abundancia de especies de fitoplancton reemplazando la temperatura por las coordenadas geográficas. Lagos de la meseta patagónica (círculos negros); lagos oligotróficos profundos y húmicos (círculos grises); lagos antárticos (círculos blancos). COD: carbono orgánico disuelto; NID: nitrógeno inorgánico disuelto; OD: oxígeno disuelto; PRs: fósforo reactivo soluble; Kd: coeficiente vertical de atenuación lumínica PAR.

De acuerdo con los resultados del CCA parcial tanto factores espaciales (latitud, longitud) y ambientales (variables físicas y químicas del agua) ejercen influencia sobre la composición del fitoplancton. La variabilidad total explicada en este análisis fue del 30,7% (ambiente solo: 23,4%; el espacio solo: 4,5%; medio ambiente + espacio: 2,8%), y un alto porcentaje corresponde a la variación no explicada y las fluctuaciones

estocásticas. La prueba de Monte Carlo fue significativa para el primer eje (solo ambiente: $p = 0,03$; solo espacio: $p = 0,012$).

Diversidad de grupos funcionales

Los grupos funcionales de fitoplancton observados en los diferentes grupos de lagos de la Patagonia y la Antártida se presentan en el anexo 2. De los 40 grupos funcionales descritos por Reynolds et al. (2002) y Padisák et al. (2009), 26 se registraron en los lagos estudiados. Los lagos de la estepa patagónica mostraron la mayor riqueza en grupos funcionales (25) y los lagos antárticos la más baja (15). El RDA basado en la abundancia de los grupos funcionales de fitoplancton y las variables ambientales también mostró un ordenamiento de los lagos en relación con su posición geográfica a lo largo del gradiente y su estado trófico (Fig. 3.5). En este análisis los dos primeros ejes explicaron el 82,6% de la varianza (eje 1: 58,6%; eje 2: 24%). Las pruebas de Monte Carlo fueron significativas para el primer eje canónico ($p = 0,002$) y para todos los ejes canónicos ($p = 0,002$). El primer eje se correlacionó inversamente con la temperatura y el pH, y directamente con el OD (coeficientes de correlación intra-set: -0,59; -0,57; 0,41, respectivamente), mientras que el segundo eje se definió principalmente por el NID (coeficiente intra-set de correlación: 0,60). Los lagos antárticos (círculos blancos) se ordenaron hacia el lado derecho de la figura, hacia mayores valores de OD y menores valores de temperaturas y pH. En una posición intermedia se ordena la mayor parte de los cuerpos de agua oligotróficos patagónicos, incluyendo los lagos profundos andinos y ambientes húmicos de Tierra del Fuego (círculos grises). En el lado opuesto, se ordenan la mayoría de los lagos de la estepa patagónica (círculos negros), hacia mayores temperaturas y valores de pH. Por otra parte, algunos lagos particulares de estepa se observan en la parte inferior de la figura hacia mayores conductividades. Los resultados del CCA parcial de los grupos funcionales también evidenciaron que factores espaciales y locales fueron importantes en la conformación de la estructura del fitoplancton. La variación total explicada en este análisis fue 46,7% (solo ambiental: 28,5%; solo espacial: 5,9%; ambiental + espacio: 12,3%). La prueba de Monte Carlo fue significativa para el primer eje (solo ambiente: $p = 0,034$; solo espacio: $p = 0,022$).

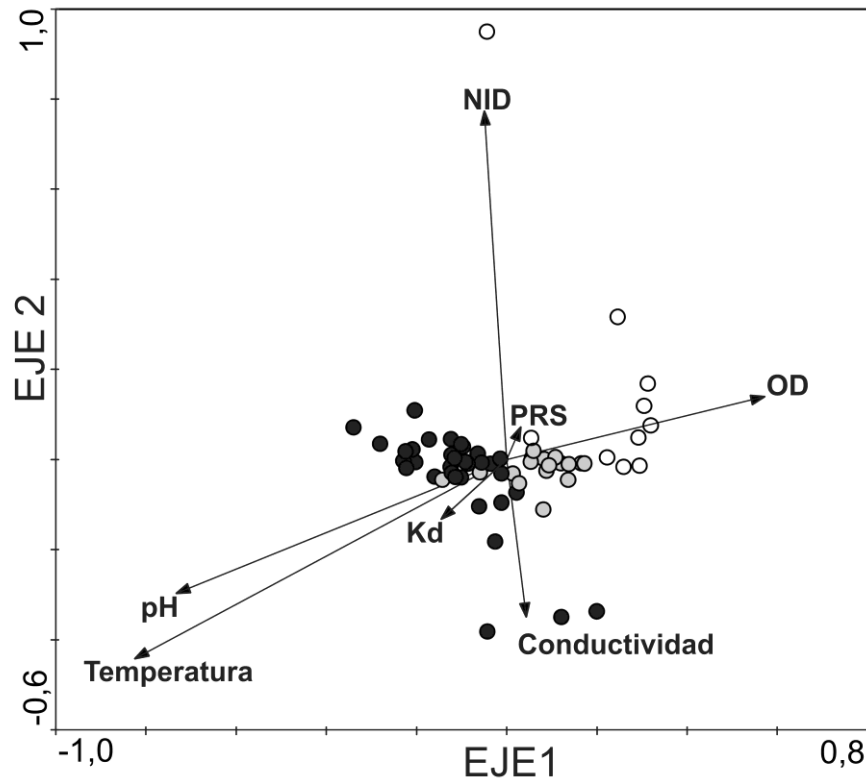


Figura 3.5: Biplot (muestras y variables ambientales) del RDA basado en la abundancia de los grupos funcionales. Lagos de la meseta patagónica (círculos negros); lagos oligotróficos profundos y húmicos (círculos grises); lagos antárticos (círculos blancos). NID: nitrógeno inorgánico disuelto; OD: oxígeno disuelto; PRS: fósforo reactivo soluble; Kd: coeficiente vertical de atenuación lumínica PAR.

Análisis de la diversidad de eucariotas con una aproximación molecular

El número de bandas de DGGE por muestra varió de 4 a 40 para todo el conjunto de lagos. El análisis de los geles dio un total de 1072 bandas, con 82 posiciones de DGGE diferentes para los lagos patagónicos y 47 para los lagos antárticos (Unrein et al., 2005). Estas OTUs representan la riqueza eucariota total dominante del plancton en los lagos estudiados. De las bandas totales obtenidas para ambas regiones, 32 posiciones diferentes se secuenciaron con éxito para los lagos patagónicos (datos enviados al GenBank, M. Romina Schiaffino), y 18 para la Antártida (Unrein et al., 2005).

A partir de estos análisis moleculares también encontramos una disminución significativa en la riqueza del plancton eucariota dominante al aumentar la latitud, con $r^2 = 0.385$ pendiente $= -0.92$, $p < 0.0001$ (Fig. 3.6). En este caso, el coeficiente de correlación entre la riqueza bandas y latitud fue $r_z = -0,73$ ($p < 0,05$).

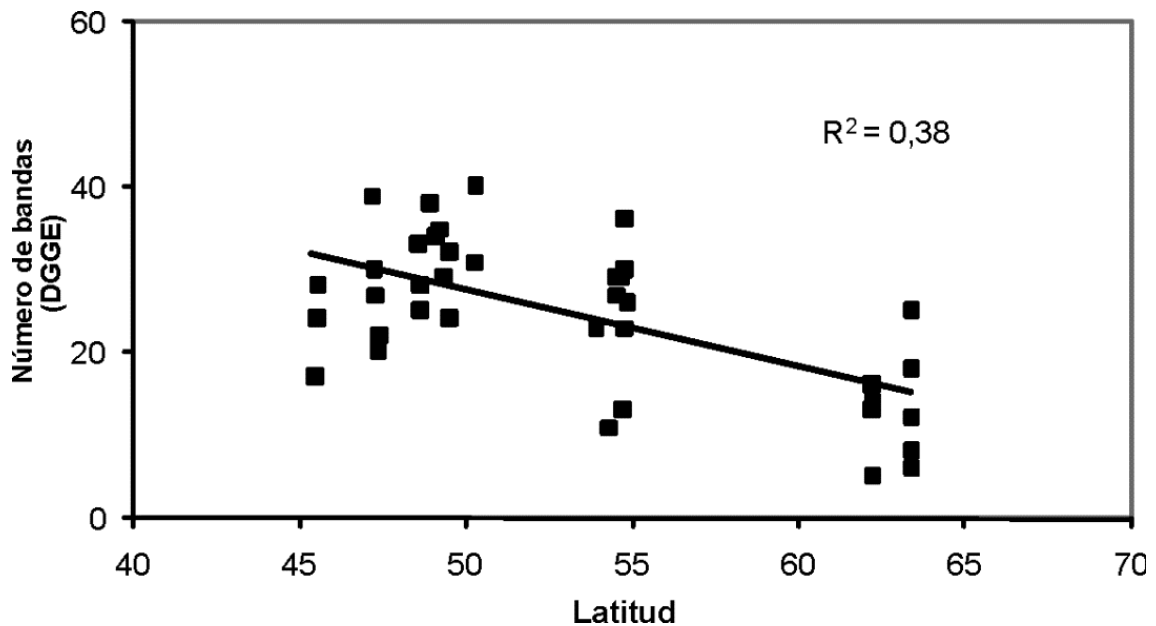


Figura 3.6: Variación en las OTUs del nanoplancton eucariótico dominante (número de bandas en el gel de electrofresis: DGGE) a lo largo del gradiente latitudinal de lagos.

El análisis multivariado CCA realizado para examinar la influencia de los factores ambientales en la diversidad molecular dio resultados similares a los obtenidos con la biodiversidad basados en los estudios microscópicos. También en este caso, tanto los factores ambientales, así como la posición geográfica de los lagos fueron importantes en la conformación de la diversidad molecular eucariota. En el CCA utilizando los perfiles de intensidad de la banda DGGE y las variables ambientales y espaciales, los dos primeros ejes explicaron un total de 62,2% de la varianza total (eje 1: 32,7%, eje 2: 29,5%). Las variables ambientales se correlacionaron significativamente con el primer eje ($p = 0,046$), y la prueba de significación de todos los ejes canónicos también fue significativa ($p = 0,006$). El primer eje se definió principalmente por el fosfato y la latitud (coeficientes de correlación intraset: 0,91 y -0,40, respectivamente); el segundo eje se correlacionó principalmente con la latitud y la longitud (coeficientes de correlación intraset: -0,46 y -0,25, respectivamente).

El análisis canónico de partición de la varianza realizado para discriminar la importancia relativa de los factores ambientales y espaciales mostró que ambos

ejercieron influencia en la diversidad biológica molecular. La importancia relativa de los componentes espaciales fue de 11,7%, mientras que para los factores ambientales, fue de 12,0% (prueba de permutación de Monte Carlo $p < 0,05$), y para el componente espacial de las influencias ambientales, fue 0,6% (medio ambiente + espacio).

Discusión

Los resultados de este estudio evidenciaron claros patrones geográficos en la diversidad del fitoplancton a través del gradiente de lagos estudiados, así como la influencia de los factores ambientales en la estructura de la comunidad. Como se esperaba (hipótesis 1), se encontró una tendencia a la disminución de la riqueza de especies al aumentar la latitud (desde la Patagonia hasta la Antártida), de acuerdo con el patrón más generalizado descrito para diferentes grupos de organismos (ej. Willig et al, 2003; Hillebrand, 2004). Esta tendencia también se observó para determinados grupos de algas en otros estudios en la misma región; en particular, se registró una disminución de la riqueza de especies de diatomeas desde la Patagonia hasta la Antártida (Maidana et al., 2005), así como una correlación inversa entre la riqueza de especies de clorococales y la latitud en un gradiente de lagos patagónicos (Tell et al., 2011).

Por el contrario, los resultados de este estudio no evidenciaron ningún patrón geográfico claro en relación con la equitatividad. En un meta-análisis de un gran número de conjuntos de datos acuáticos, Soininen et al. (2012) observaron que en muchos casos la riqueza de especies no se correlaciona con la equitatividad y argumentaron que ambos parámetros pueden responder a diferentes factores ambientales, o pueden responder de forma diferente a un factor dado, lo que refleja componentes independientes de la biodiversidad. Por ejemplo, Hillebrand et al. (2007) demostraron que en muchas comunidades acuáticas la equitatividad de especies disminuye con la fertilización, mientras que la riqueza muestra la tendencia opuesta. En nuestro estudio, la heterogeneidad en los estados tróficos de los lagos seleccionados puede estar enmascarando el patrón latitudinal en la equitatividad. También se encontró que el número de bandas por lago obtenido en el análisis molecular DGGE (asumido como los organismos eucariotas planctónicos dominantes), disminuyó con el aumento de la latitud. Curiosamente, la pendiente de esta regresión fue mayor que la pendiente de la

regresión de la riqueza de especies con la latitud basada en el análisis microscópico para toda la comunidad fitoplanctónica. Aunque la técnica molecular empleada no permite la obtención de la diversidad real, porque se asume que sólo se recuperan en este análisis los taxa más abundantes, los resultados sugieren que la pendiente del gradiente de la riqueza puede ser más alta que la obtenida a partir de estudios basados puramente en la morfología. Sin embargo, cabe señalar que el análisis de DGGE incluye también organismos eucariotas heterotróficos, lo que también puede influir en las diferencias observadas. A fin de corroborar la hipótesis de que los análisis moleculares serían más sensibles para analizar gradientes de biodiversidad microbiana, y que podrían arrojar diferencias más marcadas en las tendencias, serían necesarios más análisis basados en técnicas de secuenciación masiva. En este sentido estudios moleculares recientes utilizando Illumina que se están llevando a cabo en el grupo de investigación del que formo parte (Izaguirre y Schiaffino com pers.) están revelando un gran número de taxones eucariotas a lo largo de este gradiente latitudinal, y la presencia de algunas secuencias exclusivas de algunos lagos de la región, que son probablemente endémicas (Lara et al., enviado). La importancia de las herramientas moleculares en estudios biogeográficos de protistas fue destacada por diferentes autores (ej. Coesel y Krienitz, 2008; Weisse, 2008).

Además, algunos estudios más recientes han complementado la tradicional riqueza de especies como descriptor de la comunidad con la diversidad funcional, que es clave en la comprensión de la relación entre la función del ecosistema y la biodiversidad (Schmera et al., 2009), y diferentes medidas de diversidad funcional han sido propuestas (ej. Petchey et al., 2004; 2007). En este sentido, hacemos hincapié en la importancia de utilizar enfoques polifacéticos para analizar los patrones biogeográficos en microorganismos.

En cuanto a la variación regional de la riqueza de especies, nuestros resultados evidenciaron que el gradiente a escala regional fue más fuerte y más pronunciado que en las escalas locales, de acuerdo con el patrón descrito por otros autores (Hillebrand, 2004; Soyninen, 2010). Al examinar por separado dos partes del gradiente espacial (Patagonia y Antártida), se encontró que la semejanza inicial fue mayor en la Antártida que en la Patagonia, mientras que la distancia de reducción a la mitad de la similitud (“halving distance”) fue menor para los lagos antárticos que para los lagos patagónicos.

La separación de estas dos zonas en este análisis se justifica por la gran discontinuidad geográfica entre la Patagonia y la Antártida debido a las aguas circumpolares. Nuestros resultados concuerdan con las tendencias encontradas por Soinen et al. (2007), ya que la similitud inicial fue mayor en las latitudes altas, y por otra parte, la similitud disminuyó más rápido a mayor latitud.

Los análisis multivariados revelaron que la estructura del fitoplancton se ve afectada tanto por factores espaciales como ambientales, lo que confirma nuestra segunda hipótesis. Los CCA o RDA realizados, en base a los análisis morfológicos y moleculares de la biodiversidad (la composición de especies, grupos funcionales y patrones de bandas obtenidos por DGGE), mostraron una gran importancia de los factores espaciales (principalmente latitud) y las variables relacionadas con el estado trófico del lago en las diferencias entre los lagos. En el gradiente estudiado, la temperatura se correlacionó inversamente con la latitud, mientras que las variables asociadas con el estado trófico de los lagos (nutrientes, pH, conductividad y Kd) se asociaron en cierta medida con la longitud. Como se ha descrito, la mayoría de los lagos andinos son profundos y oligotróficos, mientras que los lagos esteparios son menos profundos y van desde mesotróficos a eutróficos. Por otra parte, el análisis de partición de la varianza permitió la separación de los efectos del espacio y ambiental, evidenciando una mayor influencia de los factores ambientales sobre la estructura del fitoplancton y también un gran porcentaje que correspondió a variaciones inexplicables y estocásticas. Estudios previos que implicaron un análisis de la diversidad del bacterioplancton en el mismo conjunto de lagos, arrojaron resultados similares (Schiaffino et al., 2011).

La importancia relativa de factores históricos (condiciones ambientales pasadas y limitación de la dispersión) frente a factores ambientales (condiciones contemporáneas) parecen estar relacionadas con la escala de muestreo (Martiny et al., 2006). En una escala espacial muy amplia (por ejemplo, decenas de miles de kilómetros), la influencia de los factores ambientales sería relativamente menos importante que la distancia *per se*. A escalas pequeñas (pocos kilómetros), en general, no hay ningún efecto de la distancia, pero las condiciones ambientales son más relevantes. A escalas intermedias (hasta 3000 km), como la de nuestros análisis, ambos factores pueden ser importantes (Martiny et al., 2006 y citas allí mencionadas). En particular para el fitoplancton,

estudios llevados a cabo en otras regiones también mostraron resultados diferentes en función de la escala. A pequeña escala (<350 kilómetros) se observó que las condiciones ambientales contemporáneas fueron el único predictor de la composición del fitoplancton (por ejemplo Vanormelingen et al., 2008; Mazaris et al., 2010). A escalas mayores algunos estudios mostraron el efecto combinado del medio ambiente y el espacio, a pesar de que las condiciones locales eran más relevantes (ej. Soininen et al., 2007b; Veryelen et al., 2009). Sin embargo, otros estudios (ej. Beisner et al., 2006; Nabout et al., 2009) informaron que ni el ambiente ni el espacio fueron significativos en la conformación de la estructura del fitoplancton. Aunque las evidencias son controversiales, analizando los antecedentes sobre el tema, parecería que las comunidades microbianas son más fuertemente estructuradas por el espacio a escalas de estudio más grandes (Soininen, 2012 y citas allí mencionadas).

En resumen, el meta-análisis realizado mostró un descenso latitudinal en la diversidad biológica de fitoplancton a lo largo del gradiente de lagos analizados, y el efecto de los factores ambientales en la estructuración de las comunidades. La combinación de enfoques para analizar la biodiversidad fitoplanctónica (composición de especies basada en la microscopía, grupos funcionales y OTUs moleculares dominantes) dieron más fuerza a los resultados obtenidos, ya que los tres enfoques mostraron patrones similares; todos los análisis evidenciaron que ambos factores, geográficos (principalmente la latitud) y las condiciones ambientales en los lagos individuales (principalmente el estado trófico) influyen en la diversidad del fitoplancton.

Los resultados de este capítulo ya fueron parcialmente publicados en un trabajo en coautoría con mi directora y otros miembros del equipo que se adjunta al final de esta tesis.

CAPÍTULO 4

**Comunidades planctónicas microbianas en ambientes
acuáticos continentales de Tierra del Fuego:
Estrategias tróficas dominantes en lagos con características
contrastantes**

Introducción

La importancia de la concentración de carbono orgánico disuelto (COD) en los cuerpos de agua ha sido ampliamente demostrada (ej. Steinberg et al., 2006 y citas allí mencionadas). Una manera típica de clasificar los lagos desde su punto de vista trófico es considerando el COD conjuntamente con la concentración de nutrientes (especialmente el fósforo reactivo soluble=PRS). Rhode (1969) fue uno de los primeros científicos en formalizar esta idea y propuso una clasificación disponiendo los lagos a lo largo de dos gradientes: un gradiente de “eutrofismo” (concentración de nutrientes) y un gradiente de “alotrofismo” (concentración de COD). Posteriormente, Williamson et al. (1999) realizaron una contribución a este modelo considerando también la “calidad” de COD como un tercer eje en este análisis. El COD alóctono en ambientes acuáticos continentales está generalmente compuesto de ácidos húmicos y fúlvicos caracterizados por ser más recalcitrantes y coloreados, mientras que el COD autóctono, es decir el que es generado por el fitoplancton o macrófitas es usualmente más lábil y menos coloreado (Jones, 1992; Keskitalo y Eleoranta, 1999; Wetzel, 2001). Jansson et al. (2000) encontraron importantes diferencias entre lagos con alta y moderada concentración de materia orgánica coloreada; en el primer caso observaron que la movilización de la energía era llevada a cabo principalmente por bacterias y que la fuente de materia orgánica era alóctona, en cambio en los lagos menos coloreados la producción pelágica era llevada a cabo principalmente por la fotosíntesis fitoplanctónica. En este mismo sentido, otros estudios realizados por Karlsson et al. (2002) cubriendo una mayor variedad de sistemas indicaron que los lagos húmicos y los lagos claros oligotróficos mostraban una similitud en cuanto a que ambos debían tener una fuente externa de materia y energía además de la producción primaria para sustentar la producción secundaria pelágica.

Considerando las estrategias tróficas del plancton, tanto estudios teóricos (Stoecker, 1998; Jost et al., 2004; Crane y Grover, 2010; Ward et al., 2011) como observacionales (Bergström et al., 2003; Palsson y Granéli, 2004; Katechakis y Stibor, 2006; Unrein et al., 2007) proponen que la autotrofia estricta y la heterotrofia parecen ser estrategias adecuadas en ambientes con alto contenido de nutrientes, mientras que la mixotrofia resultaría una mejor estrategia en ambientes con bajo contenido de nutrientes. Por otro lado, es sabido que las sustancias húmicas afectan la penetración de la luz (Kirk, 1994),

y consecuentemente tanto la producción primaria como la biomasa algal también estarán afectadas (Jones, 1992; Carpenter et al., 1998).

Dado que las condiciones ambientales seleccionan los grupos de especies que comparten características adaptativas similares, existe amplio consenso en que las comunidades son mejores indicadores de las condiciones del ambiente que la presencia o ausencia de especies puntuales (Naselli-Flores y Barone, 2011 y citas allí mencionadas). En este sentido, la estructura de las comunidades debe ser analizada en cuanto a su diversidad funcional (DF). En particular, Weithoff (2003) adoptó este concepto para el fitoplancton, donde la DF está relacionada con la multiplicidad funcional dentro de la comunidad en lugar de la multiplicidad de especies; algunos rasgos funcionales fueron definidos por este autor como una propiedad de un organismo que se puede medir y que influye en uno o más procesos esenciales tales como el crecimiento, la reproducción, etc. Se han propuesto diferentes clasificaciones funcionales del fitoplancton, las que permiten la comparación de conjuntos de esta comunidad de diferentes tipos de lagos, teniendo en cuenta sus sensibilidades y tolerancias a la luz y las condiciones de nutrientes, entre otras variables (por ejemplo, Reynolds et al., 2002; Salmaso y Padisák, 2007; Kruk et al., 2010). Las estrategias nutricionales dominantes en el plancton antes mencionados también se pueden analizar con éxito dentro de este marco funcional a lo largo de gradientes ambientales a escala regional o local (por ejemplo Tolotti et al, 2005; Sarmiento y Descy, 2008; Izaguirre et al., 2012).

La alta diversidad de cuerpos de agua presentes en Tierra del Fuego, que difieren en su estado trófico y la concentración de sustancias húmicas, ofrece un excelente escenario para la comparación de las estrategias tróficas de las comunidades microbianas que prevalecen en diferentes condiciones de nutrientes y COD. Si bien se registran varios estudios florísticos (ej. Tell y Mosto, 1982; Tell et al. 2011) de ambientes acuáticos de esta región, las turberas son el sistema que ha recibido comparativamente una mayor atención, incluyendo estudios tanto florísticos como ecológicos (Mataloni y Tell, 1996; Mataloni, 1999; González Garraza et al., 2012; Quiroga et al., 2013). En cuanto a la información limnológica general de los lagos situados en esa zona, Mariazzi et al. (1987) llevaron a cabo la primera caracterización general en la que analizaron 19 cuerpos de agua con diferente origen y características geológicas. Recientemente,

Conzonno y Ulibarrena (2010) publicaron una caracterización basada en la química del agua, a partir de datos obtenidos en esa primera investigación. De acuerdo con estos estudios los lagos ubicados en la región norte de la isla presentan altas concentraciones de nutrientes y una alta salinidad. En la región del sur, cerca de los Andes, los lagos que se encuentran rodeados de turberas se caracterizan por una alta concentración de sustancias húmicas, mientras que los grandes lagos son transparentes, y varían desde oligotróficos hasta ultraoligotrófico y con aguas blandas. Por lo tanto, los datos limnológicos disponibles para esta región indican la existencia de diferentes cuerpos de agua con concentraciones de COD y de estado trófico disímiles.

Los estudios comprendidos en el presente capítulo constituyen la primera caracterización de la estructura de las comunidades microbianas de los diferentes ambientes de agua dulce en la isla, a excepción de las turberas. Se examinaron cuerpos de agua con características limnológicas contrastantes, no sólo en lo que respecta a su morfometría, sino particularmente en su contenido de COD y estado trófico.

Se planteó la **hipótesis (1)** de que las comunidades planctónicas microbianas son diferentes entre lagos geográficamente cercanos con concentraciones de nutrientes y COD disímiles. Se analizaron las diferencias en relación a los grupos funcionales de fitoplancton dominantes y la proporción de protistas con diferentes estrategias tróficas: mixótrofos, heterótrofos y autótrofos no fagotróficos en relación al gradiente trófico de lagos.

Por otro lado, se compararon los cocientes de estrategias tróficas observados para los lagos de Tierra del Fuego con los observados para el conjunto de lagos estudiados a mayor escala espacial (latitudinal) analizado en el capítulo 3.

Se postularon las siguientes **hipótesis: 2)** La relación autótrofos / mixótrofos aumenta hacia estados tróficos superiores. **3)** Los patrones en los cocientes tróficos observados a mayor escala (latitudinal) concuerdan con los observados para un conjunto de lagos diversos y geográficamente cercanos (Tierra del Fuego).

Área de estudio

Tierra del Fuego (52°27'-55°03'S; 65°06'-70°26' W) es la región más austral del continente americano. Geográficamente se considera una isla, ya que está separada del continente por el estrecho de Magallanes. El estudio se centró en la parte argentina de la isla (Provincia de Tierra del Fuego). La temperatura en esta región es menor que en Europa en la misma latitud, debido a una corriente oceánica fría (en contraste con las corrientes más cálidas en el Atlántico Norte); como resultado, la vegetación se asemeja a la de lugares marítimos boreales como la costa escandinava (Collantes y Faggi, 1999).

La zona norte de la isla se caracteriza por una comunidad clímax de estepa de "coirón" (*Festuca gracillima*) que cubre mesetas y montañas bajas, donde el suelo es principalmente arenoso-rocoso; la temperatura media anual es de unos 5°C y las precipitaciones entre 100 y 270 mm. En esta área prevalecen pequeños lagos poco profundos, la mayoría de ellos temporales. Hacia el sur hay una zona ecotonal, donde las precipitaciones anuales alcanzan unos 2.000 mm en la parte oeste, disminuyendo a 700-800 mm hacia el este. Los árboles dominantes son el "ñire" (*Nothofagus antarctica*), "lenga" (*Nothofagus pumilio*) y una especie de ciprés (*Austrocedrus chilensis*), que pueden formar bosques de especies mixtas o individuales. En esta zona también están presentes humedales y turberas. El clima es templado y húmedo con una temperatura media anual de alrededor de 5,4°C. En la región sur-oriental de la isla (Península Mitre) el clima es mucho más frío y seco, con una comunidad clímax dominado por el "guindo" (*Nothofagus betuloides*). Las turberas son comunes en esta área con diferentes asociaciones vegetales asentadas entre ellas. Por último, la parte sur-occidental es una zona montañosa, fuertemente modelada por la actividad glacial, con suelos inmaduros rocosos o de arena y un clima típico de montaña, con nieve y granizo en cualquier momento del año. Se encuentran en esta zona lagos de origen glacial o periglacial y valles tapizados por turberas donde se forman lagunas (Cabrera, 1971; Iturraspe y Urciolo, 2000). En esta investigación se han estudiado los cuerpos de agua ubicados en tres de las regiones citadas, con la excepción de la Península Mitre, ya que es una zona inaccesible por tierra.

Se seleccionaron 12 cuerpos de agua de Tierra del Fuego con diferentes características limnológicas para cubrir los ecosistemas lénticos representativos de la región (Fig. 4.1): lagos oligotróficos (Escondido, Fagnano, Acigami, Yehuin), lagos húmicos (Laguna

Negra, Laguna Victoria), lagunas de estepa eutróficas (San Luis y Laguna de los Cisnes) y lagunas afectadas por castores (denominadas en este estudio “Ponds” a, b, c, d, entre los cuales los tres últimos son típicamente embalses de castor).



Figura 4.1: Mapa de la zona de estudio.

La posición geográfica de los cuerpos de agua fue obtenida mediante GPS (sistema de posicionamiento geográfico; Garmin, KS, EE.UU.). La Tabla 4.1 muestra los datos morfométricos disponibles en la bibliografía de los lagos estudiados.

Las muestras se recolectaron en tres períodos de muestreo diferentes en la mayoría de los lagos: octubre de 2008, enero de 2010 y abril de 2012 (primavera, verano y otoño, respectivamente). La metodología de toma y procesamiento de muestras, así como los detalles de los análisis estadísticos, se describieron en el capítulo 2 de esta tesis.

Tabla 4.1: Tipo, posición geográfica y principales características morfométricas (zmedia:profundidad media, zmax:profundidad máxima) de los cuerpos de agua estudiados.

Lago	Tipo	Latitud (°S)	Longitud (°W)	Altitud (msnm)	Area (km²)	Zmedia (m)	Zmax (m)
Victoria	húmico	54.78	67.70	103	0.09	-	-
Negra	húmico	54.84	68.59	29	0.14	-	-
Escondido	oligotrófico	54.68	67.81	120	6.05	38.0	73.0
Fagnano	oligotrófico	54.59	67.62	27	646.69	80.7	180.0
Acigami (Roca)	oligotrófico	54.83	68.56	20	19.20	22.4	54.0
Yehuín	oligotrófico	54.36	67.78	50	42.48	42.7	102.0
Pond a	lag. castor	54.85	68.58	15	0.001	<1	-
Pond b	lag. castor	54.87	67.35	11	0.14	<1	-
Pond c	lag. castor	54.60	67.63	43	0.0003	<1	-
Pond d	lag. castor	54,85	67,5	12	0.04	<1	-
Cisnes	estepa	53.79	67.78	8	3.12	-	-
San Luis	estepa	53.92	67.60	10	3.75	1.1	2.0

Resultados

Los cuerpos de agua estudiados presentaron una amplia de variación en sus variables físicas y químicas (Tabla 4.2). La temperatura del agua fue generalmente menor en los grandes lagos oligotróficos, con una menor variación entre las fechas de muestreo. El valor máximo se registró en la Laguna Negra en enero de 2010 y el mínimo en el lago Escondido y el Acigami en octubre de 2008. Las concentraciones de oxígeno disuelto fueron relativamente altas en todos los cuerpos de agua, los valores medios variaron desde 10 hasta 13,1 mg l⁻¹; las concentraciones más altas se registraron en las lagunas de castor.

Los valores de conductividad y pH fueron menores en los lagos húmicos, lo que probablemente está relacionado con la alta influencia del musgo *Sphagnum* sp. que se encuentra tapizando el fondo y las áreas litorales de estos lagos. Los valores más altos de conductividad y pH se registraron en los lagos poco profundos de la estepa, en particular en la Laguna de los Cisnes, probablemente debido a la gran influencia marina causada por su ubicación relativamente cerca del litoral marino.

Las concentraciones de nutrientes fueron, en general, muy bajas y en algunos casos los valores estaban por debajo del límite de detección (Tabla 4.2). Los valores más bajos fueron encontrados en los lagos profundos oligotróficos, mientras que los valores más altos se observaron en los lagos esteparios.

En cuanto a la concentración de Chl *a*, los lagos oligotróficos profundos y los húmicos mostraron los valores más bajos, mientras que las concentraciones más altas se registraron en las lagunas de castor. Las concentraciones de COD fueron mayores en los lagos esteparios, seguido de las lagunas de castor y lagos húmicos, en cambio los lagos oligotróficos mostraron las concentraciones más bajas de esta variable. Los grandes lagos oligotróficos fueron los menos coloreados, los lagos húmicos mostraron valores de color más altos y los estanques presentaron un alto rango de variación.

Tabla 4.2: Valores medios y rangos (entre paréntesis) de las variables físicas y químicas medidas en cada ambiente. Chl*a*: clorofila a. NID: nitrógeno inorgánico disuelto, PRS: fósforo reactivo soluble, COD: carbono orgánico disuelto, Kd: coeficiente extinción vertical de luz PAR, □ ambientes muestreados sólo una vez.

Lago	Temp. (°C)	pH	Cond. (µS cm ⁻¹)	Oxig. Dis. (mg l ⁻¹)	Chl <i>a</i> (µg l ⁻¹)	NID (mg l ⁻¹)	PRS (mg l ⁻¹)	COD (mg l ⁻¹)	Kd (m ⁻¹)
Victoria	4.9-13.5 (8.5)	6.4-7.4 (6.8)	34.9-55.6 (48.5)	9.7-12.1 (10.9)	0.1-1.6 (0.7)	0-0.06 (0.03)	0-0.09 (0.04)	6.4-10.8 (8.6)	1.8-2.8 (2.3)
Negra	6.1-15.9 (9.8)	6.0-6.9 (6.3)	65.5-77.1 (69.5)	8.9-11.5 (10.17)	0.1-2.2 (0.9)	0.01-0.13 (0.06)	0.01-0.07 (0.04)	8.1-12.0 (10.0)	0.8-1.0 (0.8)
Escondido	4.5-10.7 (7.7)	6.0-7.4 (6.7)	69.5-104.6 (92.4)	9.8-11.5 (10.8)	0.1-1.5 (0.6)	0.01-0.07 (0.03)	0.04-0.05 (0.04)	2.3-7.1 (4.7)	0.6-0.7 (0.7)
Fagnano	6.7-9.7 (8.4)	6.2-7.5 (6.9)	59.4-87.5 (77.2)	10.3-11.7 (11.2)	0.1-1.1 (0.6)	0.02-0.07 (0.04)	0.02-0.05 (0.03)	2.6-5.6 (4.1)	0.7
Acigami	4.5-13.3 (8.7)	6.9-7.6 (7.3)	61.1-79.4 (72.7)	8.2-11.2 (10.0)	0.1-4.0 (2.0)	0-0.08 (0.03)	0.01-0.10 (0.05)	2.1-5.1 (3.6)	1.5
Yehuin □	8.0	8.0	197.0	11.5	0.1	0.14	0.04	9.3	0.4
Pond a □	13.4	8.2	1284.0	10.5	0.3	0.08	0.03	6.9	2.2
Pond b □	8.2	7.9	110.3	10.7	0.3	0.04	0.08	17.1	3.0
Pond c	8.3-14.8 (10.6)	6.5-8.5 (7.3)	138.0-205.0 (161.5)	7.7-15.5 (12.0)	0.3-9.3 (4.8)	0-0.08 (0.031)	0.01-0.08 (0.05)	11.3-24.8 (18.0)	3.3
Pond d	6.9-14.4 (10.6)	6.3-8.6 (7.5)	181.0-272.0 (226.5)	12.7-13.6 (13.1)	11.3-33.5 (22.4)	0.01-0.03 (0.02)	0.02-0.04 (0.03)	9.1	0.7
San Luis □	10.7	8.1	313.0	10.7	0.7	0.08	0.17	17.8	2.1
Cisnes □	12.7	9.0	25800.0	12.0	0.4	0.13	0.40	50.2	2.7

Composición de las comunidades planctónicas microbianas

Fitoplancton

Las abundancias y biovolúmenes de fitoplancton más bajas se registraron en los lagos oligotróficos profundos (valores medios 392 ind. ml⁻¹ y 3,4 x 10⁵ μm³ ml⁻¹, densidad y biovolumen respectivamente), mientras que los mayores valores medios correspondieron a las lagunas de castor (11.895 ind. ml⁻¹ y 1,3 x 10⁷ μm³ ml⁻¹). En los lagos húmicos la abundancia de fitoplancton mostró valores intermedios (2.086 ind. ml⁻¹ y 1,1 x 10⁷ μm³ ml⁻¹) (Fig. 4.2a). Los lagos esteparios exhibieron abundancias de fitoplancton contrastantes; en el lago San Luis se registraron los valores de biomasa más altos entre los lagos estudiados (4,5 x 10⁷ μm³ ml⁻¹), mientras que los más bajos se observaron en la Laguna de los Cisnes (1,2 x 10⁶ μm³ ml⁻¹) (Fig. 4.2a).

La composición algal difirió entre los lagos estudiados. En general, las Heterokontophyta (particularmente Chrysophyceae) fueron las mejor representadas en todos los cuerpos de agua, a excepción de los lagos esteparios. En ambientes pobres en nutrientes, es decir en los lagos húmicos y en los grandes lagos oligotróficos, el fitoplancton estuvo compuesto en más de un 50% por Chrysophyceae, con *Ochromonas* spp. como uno de los taxones dominantes. Bacillariophyceae, Chlorophyceae y Cryptophyceae también fueron muy abundantes, sobre todo en las lagunas esteparias y lagunas de castor (Fig. 4.2b).

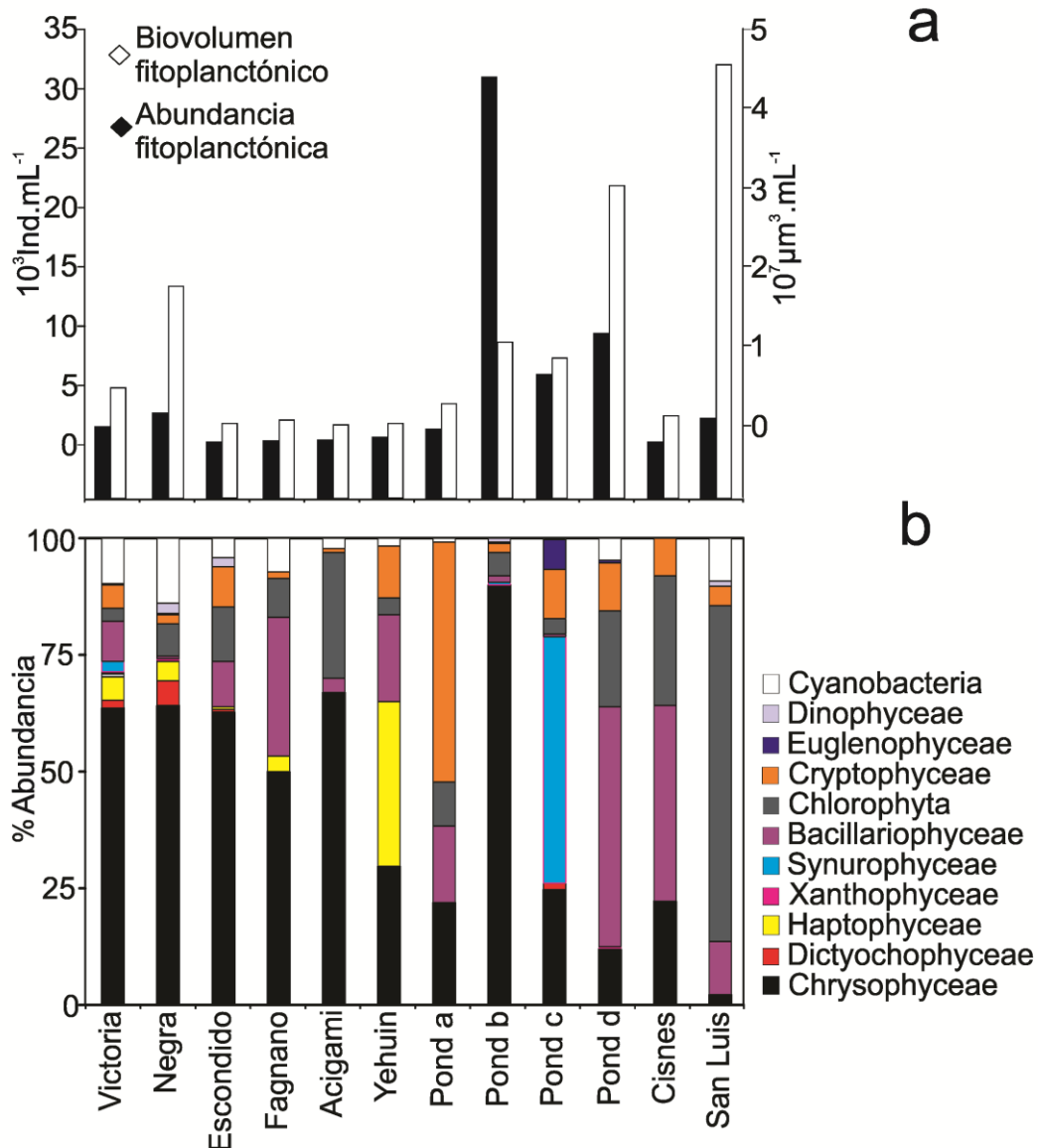


Figura 4.2 a: Biovolumen fitoplanctónico total (eje Y izquierdo) y abundancia fitoplanctónica (eje Y derecho) en los lagos estudiados; b: proporción relativa de la abundancia de los diferentes grupos algales. Los lagos fueron ordenados de izquierda a derecha en función del estado trófico creciente.

Se registraron en total 181 especies de fitoplancton en todos los lagos muestreados. Los taxones más abundantes y frecuentes en cada tipo de sistema se indican en la Tabla 4.3, los cuales fueron clasificados en los grupos funcionales de fitoplancton según Reynolds et al. (2002) y Padišák et al. (2009). Las principales características ecológicas de los diferentes grupos funcionales están indicadas en la misma tabla. Los taxones más abundantes correspondieron a 12 grupos funcionales: Lo, N, X3, E (registrados

principalmente en los lagos oligotróficos húmicos y claros); X2, X1, Y, D (en lagunas de castor y lagos esteparios); F, J, K, P (sólo en los lagos esteparios).

Tabla 4.3: Principales grupos funcionales del fitoplancton con sus características ecológicas más importantes, observados en los cuatro tipos de ambientes estudiados. Para cada grupo funcional se indica el taxón más frecuente y/o abundante.

Grupo Funcional	Características ecológicas principales	Taxa más frecuentes o abundantes	Tipo de Ambiente
Lo	Lagos profundos y someros, toleran condiciones de bajos nutrientes	<i>Chroococcus</i> spp. <i>Coelosphaerium</i> spp.	Lagos húmicos
N	En el epilimnio de lagos estratificados o en ambientes someros, toleran deficiencia de nutrientes	<i>Tabellaria tabulata</i>	Lagos húmicos
X3	Especies nanoplanctónicas de lagos oligotróficos, incluye especies fagotróficas	<i>Chromulina</i> sp. <i>Chrysocapsa planctonica</i> <i>Chrysochromulina</i> sp. <i>Monochrysis</i> sp. <i>Ochromonas</i> sp. <i>Pseudopedinella</i> sp.	Lagos húmicos, lagos claros profundos
E	Ambientes oligotróficos, lagunas heterotróficas, incluye taxa fagotróficas	<i>Dinobryon cylindricum</i> <i>Dinobryon</i> sp. <i>Mallomonas</i> spp.	Lagos húmicos, algunas lagunas de castor
X2	Ambientes someros meso-eutrófico, toleran estratificación	<i>Chlamydomonas minutissima</i> <i>Chlamydomonas</i> sp. <i>Ochromonas</i> spp. <i>Plagioselmis lacustris</i> <i>Plagioselmis nanoplantica</i>	Lagunas de castor
X1	Lagunas de eutrófica a hipereutrófica, toleran estratificación	<i>Chlorella</i> sp. <i>Monoraphidium arcuatum</i> <i>Monoraphidium circinale</i> <i>Monoraphidium contortum</i> <i>Monoaphidium griffithii</i>	Lagunas de castor, lagos de estepa
Y	Incluye grandes criptofitas que toleran condiciones de baja luz, lagos con altos nutrientes	<i>Cryptomonas</i> spp.	Lagunas de castor, lagos de estepa
F	Lagos meso-eutrófico, sin estratificación, toleran alta turbidez	<i>Oocystis parva</i>	Lagos de estepa
J	Lagos someros ricos en nutrientes, estanques y ríos	<i>Willea</i> sp.	Lagos de estepa
K	Aguas enriquecidas en nutrientes, lagos someros	<i>Aphanocapsa delicatissima</i>	Lagos de estepa
D	Ambientes someros y turbios	<i>Synedra</i> sp.	Lagunas de castor
P	Epilimnion eutrófico, con tolerancia a baja condición de luz y sensible a la estratificación	<i>Aulacoseira granulata</i>	Lagos de estepa
MP	Diatomeas litorales que son lavadas al plancton	<i>Epithemia longiseta</i> <i>Fragilaria construens</i> <i>Navicula</i> spp.	Lagunas de castor

Bacterioplancton

La comunidad de bacterias heterótrofas mostró las abundancias más bajas en los lagos húmicos y claros oligotróficos con valores de $9,1 \times 10^5$ células ml^{-1} en promedio, mientras que las densidades más altas se registraron en el lago San Luis, con $1,2 \times 10^7$ células. ml^{-1} (Fig. 4.3). Los estanques de castor en cambio presentaron valores intermedios.

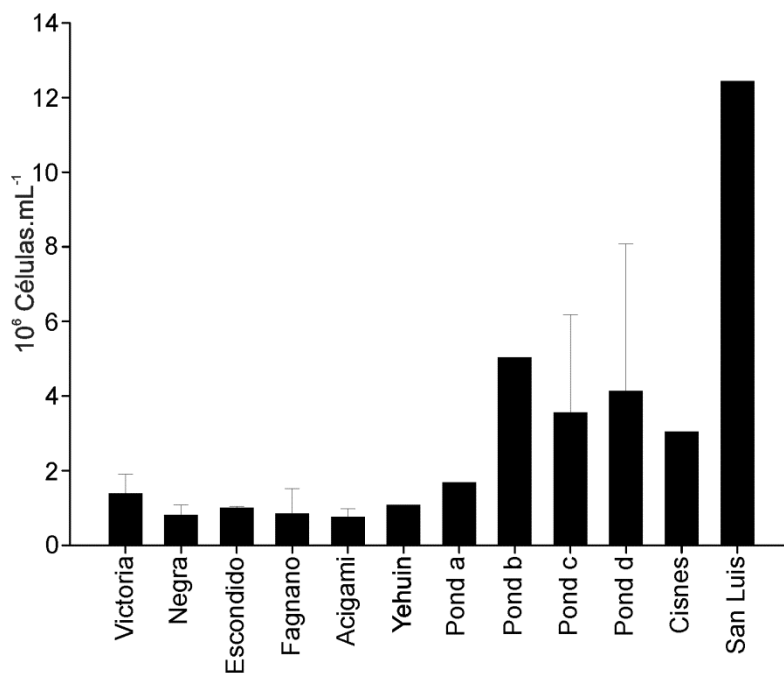


Figura 4.3: Abundancia media del bacterioplancton en cada lago estudiado. Las barras representan el desvío estándar en los cuerpos de agua muestreados más de una vez.

En cuanto al estudio de la composición de grupos bacterianos mediante la técnica CARD-FISH, el porcentaje de hibridación de la sonda EUB I-III con respecto al total de procariontas heterotróficos (recuentos bajo luz UV células teñidas con DAPI) en promedio fue del 72% con un desvío del 15% ($n=6$), constituyendo un valor dentro del éxito de hibridación aceptable. Por otro lado, los valores de abundancias de bacterias totales obtenidos son comparables con los previamente reportados en los recuentos de epifluorescencia. La diferencia entre los recuentos de DAPI y los de la sonda EUB I-III en los diferentes lagos (Fig. 4.4a) se puede adjudicar a la presencia de arqueas, ya que la eficiencia normal de hibridación de la sonda nunca es del 100%, no pudiéndose tampoco descartar cierto margen de error experimental.

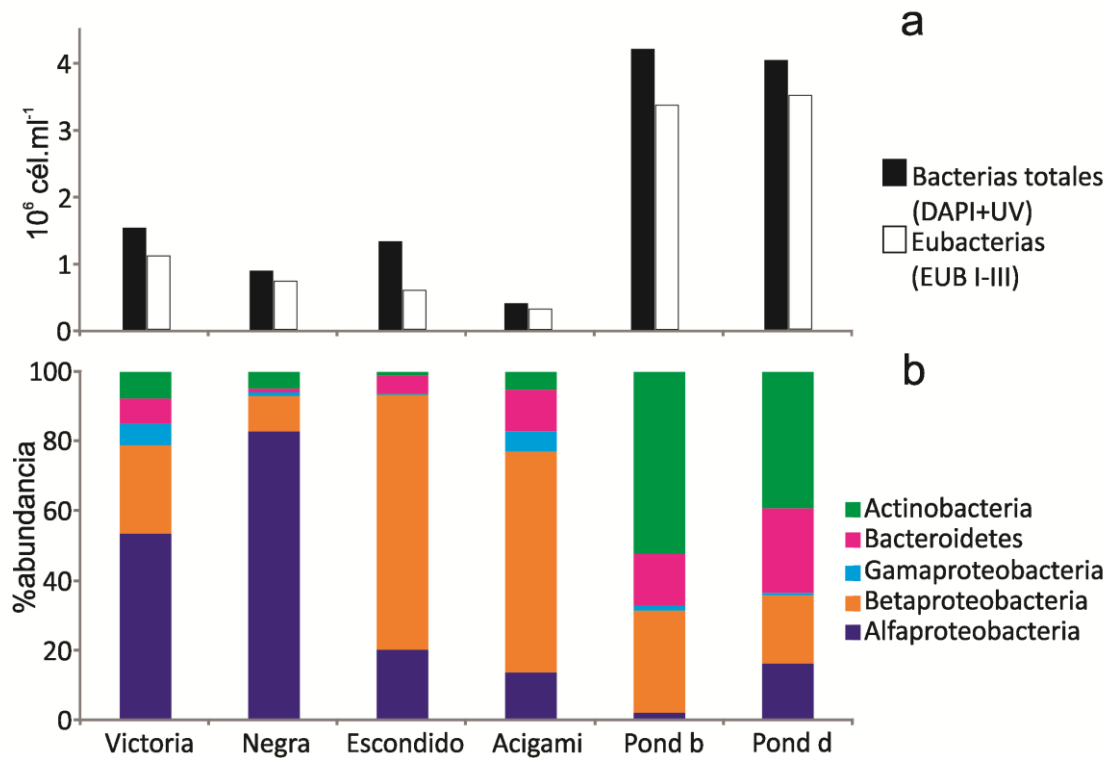


Figura 4.4: Abundancia de procariotas heterotróficos totales (muestras teñidas con DAPI) en los lagos estudiados y abundancia de eubacterias (sondas de CARD-FISH EUB I-III) (a). Proporción relativa de las abundancias de los diferentes grupos bacterianos en los lagos estudiados (b).

Con respecto a las sondas específicas para los distintos tipos de bacterias, se encontraron diferencias en los porcentajes relativos de hibridación en cada tipo de lago (Fig. 4.4b): las Alfabroteobacteria presentaron las mayores abundancias en los lagos húmicos, representando entre el 53% y el 83% de todos los grupos bacterianos comprendidos en este estudio; en el resto de los lagos este grupo bacteriano no superó el 23%. Las Betaproteobacteria en cambio fueron halladas dominando los lagos claros oligotróficos (74% en el Lago Escondido y 62% en el lago Fagnano). El tercer grupo bacteriano dominante fue el de las Actinobacteria, que fueron encontradas en mayor proporción en los “Ponds”, representando entre un 39% y un 52% del total de bacterias. Los grupos bacterianos restantes, si bien estuvieron presentes en los lagos estudiados, no desarrollaron grandes densidades; Bacteroidetes alcanzaron un máximo de 24% del

total en un Pond y Gammaproteobacteria un máximo de 5,7% del total en el lago Acigami.

Picoplancton autotrófico

A través de los recuentos de epifluorescencia se evidenció que las comunidades de picoplancton autotrófico mostraron las abundancias más bajas en los lagos húmicos y claros oligotróficos con valores entre 4×10^4 y $8,1 \times 10^4$ céls. ml^{-1} , mientras que las densidades más altas se registraron en el lago San Luis, con $8,1 \times 10^5$ céls. ml^{-1} (Fig. 4.5). Las picocianobacterias (Pcy) fueron más abundantes que las picoeucariontas (Peuk), excepto en los lagos húmicos y lagunas de Castor. Dentro de las Pcy, aquellas ricas en ficoeritrina (PE) fueron más abundantes en los lagos oligotróficos claros, mientras que las Pcy ricas en ficocianina (PC) prevalecieron en uno solo de los lagos húmicos (Laguna Negra) y en el lago San Luis.

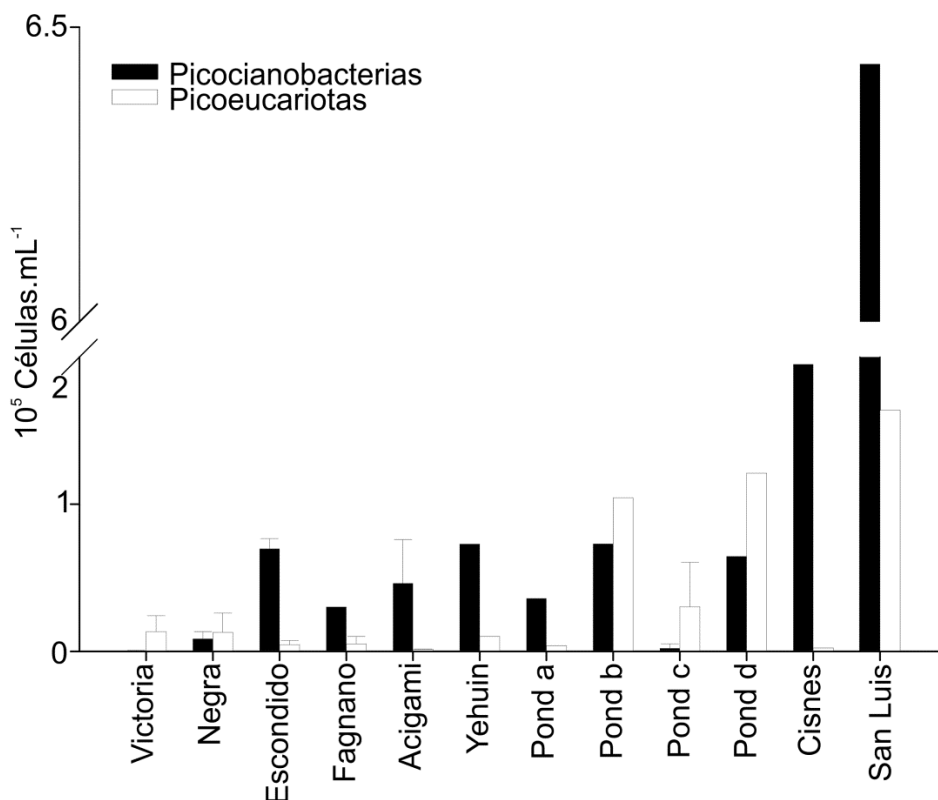


Figura 4.5: Abundancia media del picoplancton autotrófico en cada lago estudiado. Las barras representan el error estándar (en los cuerpos de agua muestreados más de una vez).

El estudio de la comunidad picoplanctónica mediante citometría de flujo (campana del 2012), fue realizado en tres de los cuatro tipos de lagos estudiados (no pudieron incluirse los lagos de estepa por razones logísticas). En líneas generales los resultados concuerdan con obtenidos a partir de los recuentos de epifluorescencia. Los lagos claros oligotróficos (Escondido, Fagnano y Escondido) presentaron principalmente una población bien definida de picocianobacterias ricas en ficoeritrina, al igual que se observa en el lago Acigami (Fig. 4.6), mientras que las algas picoeucariotas se presentaron en muy baja densidad, inclusive dificultándose la delimitación de la población/es.

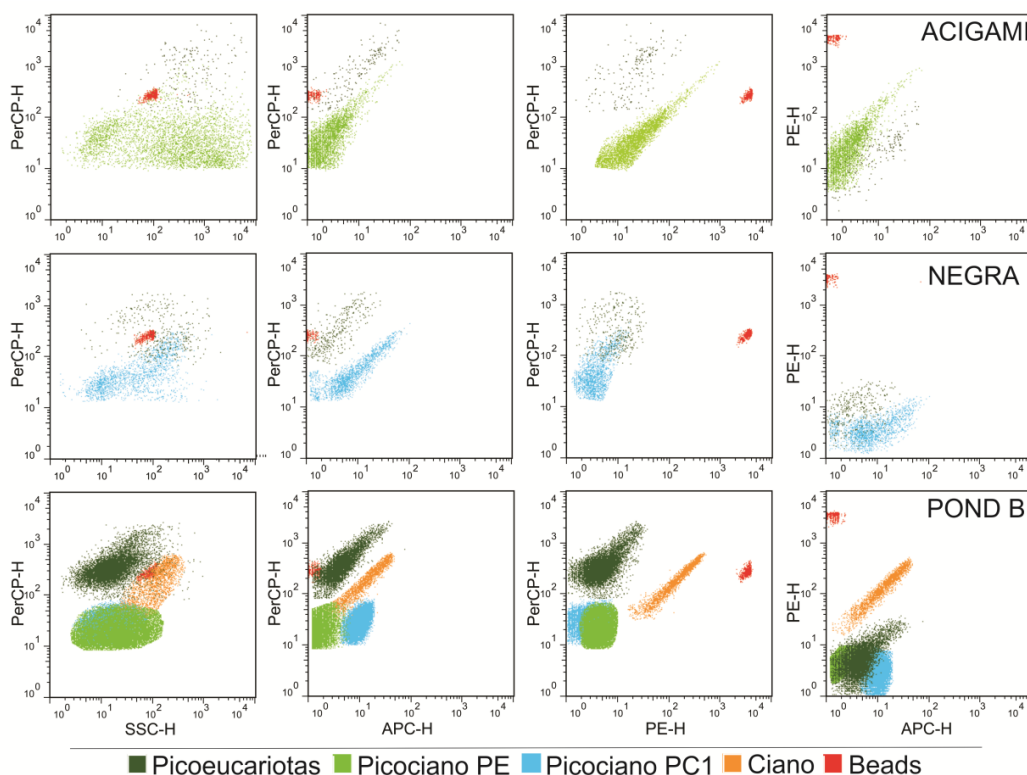


Figura 4.6: Algunos citogramas representativos de los tipos de lagos estudiados: Acigami (lago claro profundo), Negra (lago húmico), Pond b (laguna de castor). PE: rica en ficoeritrina; PC: rica en ficocianina; Beads: esferas de latex utilizadas como referencia; SSC-H: (side scatter) dispersión de la luz a 90°; PerCP-H: fluorescencia verde, excitación con láser azul; PE-H: fluorescencia naranja, excitación con láser azul; APC-H: fluorescencia roja, excitación con laser rojo.

Las dos lagunas húmicas resultaron ser sustancialmente diferentes en cuanto a esta comunidad: la laguna Victoria, tal como se observó en los análisis de epifluorescencia (Fig. 4.5) solamente presentó picoeucariotas en bajas densidades, mientras que la laguna

Negra, además de picoeucariotas, también presentó una población de picocianobacterias ricas en ficocianina. Por último, la laguna de castor Pond b mostró una mayor densidad y tipos de poblaciones de picoplancton: se observaron además de picoeucariotas y cianobacterias de mayor tamaño, dos poblaciones de picocianobacterias con cierto grado de superposición, las que correspondieron a una población de picocianobacterias ricas en ficocianina y una de picocianobacterias ricas en ficoeritrina.

Nanoflagelados heterotróficos (HNF) y ciliados

Las abundancias de HNF y ciliados (Fig. 4.7 a y b) mostraron importantes diferencias entre los lagos. Los ciliados fueron más abundantes en las lagunas de castor b y c (53 y 67 ind. ml⁻¹), mientras que en los otros cuerpos de agua las densidades fueron relativamente bajas (menos de 9 ind. ml⁻¹). En cuanto a los HNF, el lago de los Cisnes (laguna de estepa) tuvo la mayor abundancia (1,8 x 10⁴ ind.ml⁻¹); los valores intermedios se registraron en el Lago Victoria y en las lagunas de castor (4,5x10³ - 8x10³ ind.ml⁻¹) y las abundancias más bajas se encontraron en la Laguna Negra (lago húmico) y en los lagos oligotróficos Escondido, Fagnano y Acigami, variando entre 6,4 x 10² y 1,0 x 10³ ind.ml⁻¹. Curiosamente, en el estanque de castor c se observó una gran variación tanto en la abundancia de ciliados y como de HNF.

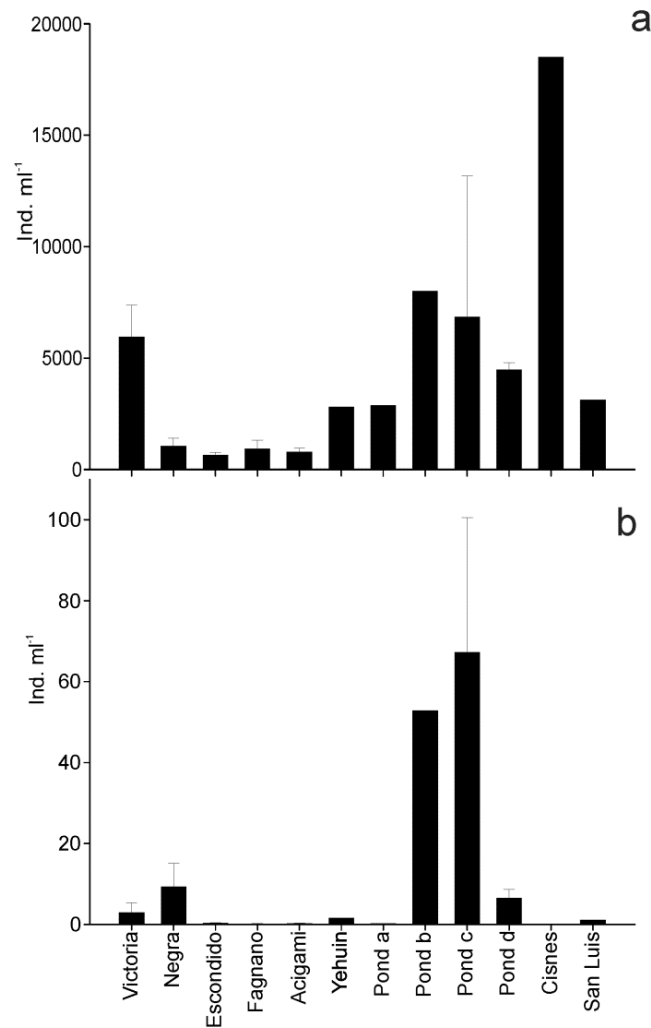


Figura 4.7: Abundancia de nanoflagelados heterotróficos (a) y ciliados (b) en los lagos estudiados.

Análisis multivariados

El análisis de conglomerados realizado en función de las abundancias de las especies de fitoplancton (Fig. 4.8) pone en evidencia las diferencias entre los lagos estudiados. Se separaron dos grandes grupos con un alto nivel de disimilitud: uno de ellos está conformado por los lagos oligotróficos claros (Fagnano, Escondido, Acigami y Yehuín), y el otro incluye los dos lagos húmicos (Victoria, Negra) y dos lagunas de castor (Pond a y c). Por otro lado, los cuerpos de agua más eutróficos (la mayoría de las lagunas de castor y lagos esteparios) no conformaron un grupo distintivo, probablemente porque presentan una mayor heterogeneidad y variabilidad.

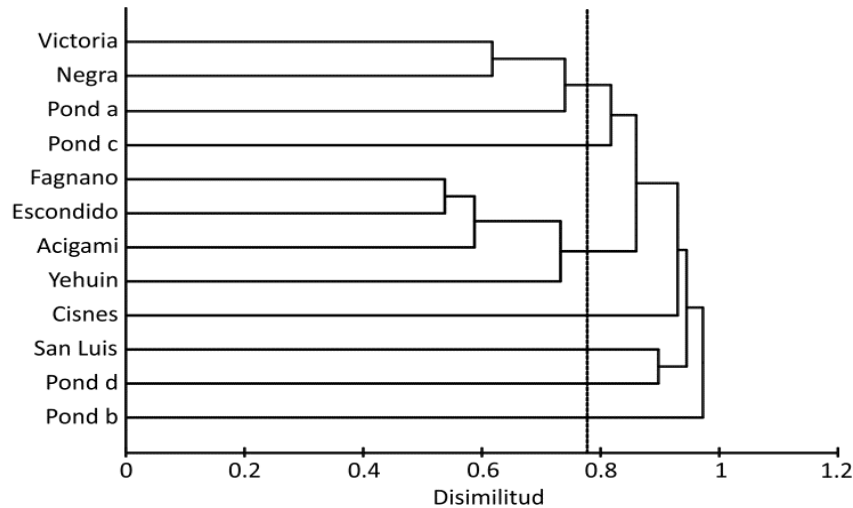


Figura 4.8: Análisis de cluster basado en la abundancia de especies de fitoplancton en cada cuerpo de agua, usando el índice de Bray curtis y el algoritmo UPMGA.

En el RDA basado en la abundancia de los grupos funcionales de fitoplancton y las variables ambientales (Fig. 4.9a, b) las flechas llenas indican las variables que resultaron significativas en términos de la variación en la distribución de los grupos funcionales. Los dos primeros ejes explicaron el 75,4% de la varianza (eje 1: 52,6%; eje 2: 22,8%). El primer eje estuvo principalmente definido por una combinación de pH y Chl *a* (coeficientes de correlación: 0,78 y 0,36, respectivamente), el eje 2 estuvo correlacionado principalmente con el pH y con el PRS (coeficientes de correlación: 0,61 y 0,50, respectivamente). Las pruebas de Monte Carlo fueron significativas para todos los ejes canónicos ($p = 0,05$ y $p = 0,02$). El RDA basado en las abundancias de especies mostraron resultados similares y también en este caso el primer eje estuvo definido principalmente por una combinación de pH y Chl *a* y el segundo eje por el pH y PRS.

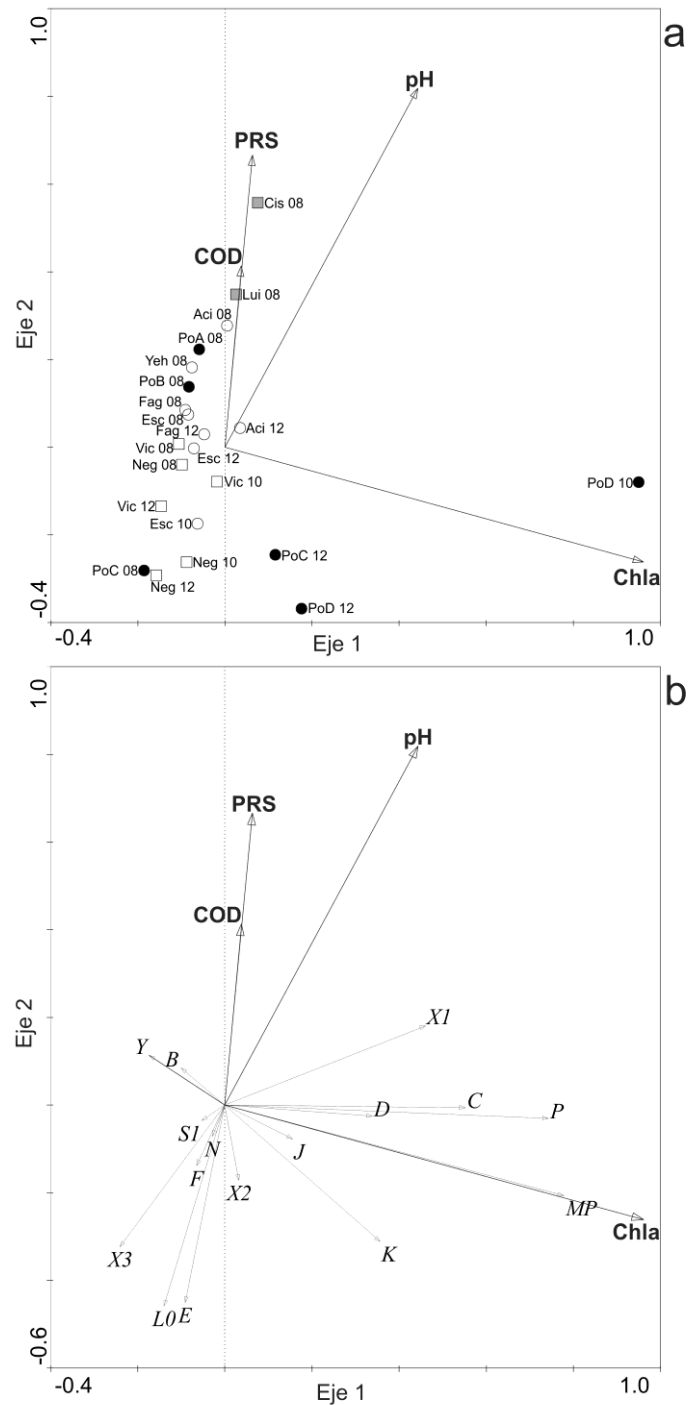


Figura 4.9: Biplot del análisis de redundancia basado en la abundancia de los grupos funcionales de fitoplancton según Reynolds et al. (2012). a) Ordenación de las muestras en relación a las variables ambientales. b) Grupos funcionales y variables ambientales. Victoria (Vic), Negra (Neg), Escondido (Esc), Fagnano (Fag), Acigami (Aci), Yehuin (Yeh), Pond a (PoA), Pond b (PoB), Pond c (PoC), Pond d (PoD), San Luis (Lui), Cisnes (Cis). Círculos blancos: lagos oligotróficos; cuadrados blancos: lagos húmicos; círculos negros: lagunas de castor; cuadrados grises: lagunas de estepa. Los números en los rótulos de los lagos indican el año de muestreo.

Estos análisis mostraron una ordenación de los lagos a lo largo de un gradiente de pH y concentración de PRS. Los lagos esteparios (San Luis y Laguna de los Cisnes) se ubicaron en la parte superior de la figura, asociados positivamente con los valores altos de pH y de PRS. Los lagos húmicos (Laguna Negra y Victoria) se ordenaron en la parte inferior de la figura, mientras que la mayoría de los lagos oligotróficos se ordenaron en el centro del gradiente. Por otro lado, las lagunas de castor tendieron a seguir un gradiente positivo de Chl *a* y se ubicaron a la derecha del gráfico. En términos generales, las muestras de primavera del 2008 están estrechamente relacionadas con mayor COD y contenidos PRS, mientras que las de verano de 2010 y principios de otoño de 2012 son más dispersas en el gráfico y están asociadas a menores concentraciones. Las diferencias encontradas en las muestras del 2008 probablemente estén asociadas al efecto del derretimiento de la nieve acumulada que ocurre en la primavera.

Por otro lado, los codones C, P, MP, X1 y J estuvieron asociados con altos valores de Chl *a* (lagunas de castor). El codón C incluye varias especies de diatomeas céntricas que viven en lagos eutróficos pequeños o medianos con una sensibilidad marcada a la estratificación; el grupo P es habitual en el epilimnion de ambientes eutróficos y está conformado por diatomeas y desmidiáceas que tienen la capacidad de sobrevivir en ambientes con poca luz; MP es un codón conformado por diatomeas litorales que son incorporadas al plancton. X1 es común en ambientes hipereutróficos someros, e incluye varias especies de clorococales, mientras que el codón J comprende principalmente clorococales que se desarrollan en aguas someras y eutróficas.

Abundancias del nanoplancton y microplancton en el gradiente de estado trófico

En la figura 4.10 a,b, c se muestran los resultados de los análisis de regresión de los cocientes entre las abundancias de los organismos micro y nanoplanctónico clasificados según el tipo de nutrición (autótrofos estrictos/mixótrofos, autótrofos estrictos/heterótrofos, micótrofos/heterótrofos) y la concentración de Chl *a*. En esta figura se presentan en conjunto para cada cociente los datos pertenecientes a lagos de Tierra del Fuego y también los lagos del gradiente de lagos desde Patagonia a la Antártida (presentados en el capítulo 3). Se observa una clara tendencia de aumento del

cociente autótrofos estrictos/mixótrofos en relación a la Chl *a* ($R^2= 0,87$, $n=22$, $p <0.001$). Por otro lado, el cociente autótrofos estrictos/heterótrofos también mostró una tendencia de aumento hacia valores mayores de Chl *a* ($R^2=0,49$; $n=22$; $p < 0.001$). Para el conjunto de lagos de la transecta se encontraron las mismas tendencias pero ajustando a un modelo logarítmico ($R^2= 0,30$, $n=53$, $p <0.001$; $R^2= 0,26$, $n=53$, $p <0.001$ para autótrofos estrictos/mixótrofos y autótrofos estrictos/heterótrofos respectivamente) (presentado en los gráficos pequeños de la figura 4.10 a y b). Contrariamente, no se observó una tendencia en ambos casos en relación al cociente mixótrofos/heterótrofos ($R^2= 0,05$, $n=22$ y $R^2= 0,0085$, $n=53$ respectivamente).

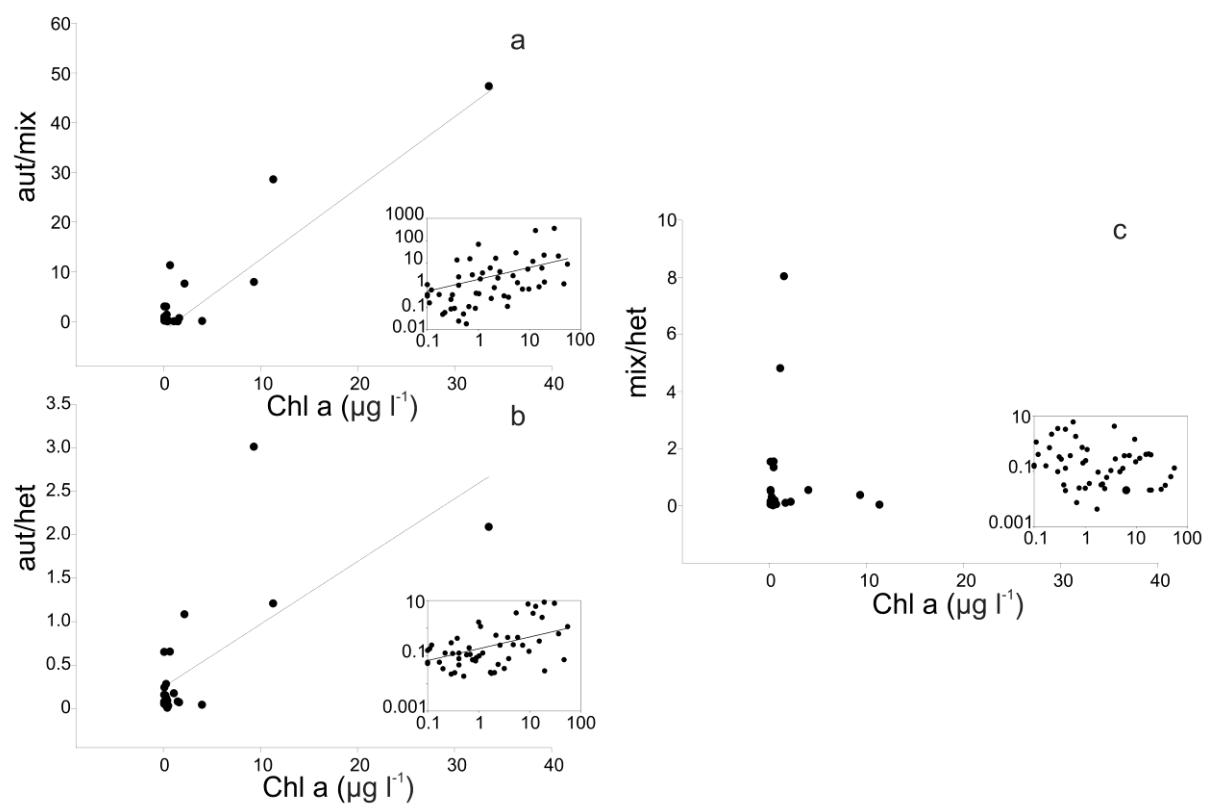


Figura 4.10: Regresiones simples entre los cocientes de las abundancias del nano y microplancton clasificados según las diferentes estrategias y la clorofila a. Gráficos principales corresponden a los datos de los lagos de Tierra del Fuego; gráficos pequeños corresponden a datos de una transecta Patagónica Antártica. autótrofos (Aut), mixótrofos (Mix), heterótrofos (Het). Ajustes de regresion: a) $R^2= 0,87$, $n=22$, $p <0,001$; $R^2= 0,30$, $n=53$, $p <0,001$ b) $R^2= 0,49$, $n=22$, $p <0,001$; $R^2= 0,26$, $n=53$, $p <0,001$ c) $R^2= 0,05$, $n=22$, $p >0,05$; $R^2= 0,0085$, $n=53$.

Discusión

Considerando el amplio rango de variación en la concentración de nutrientes y COD que presentan los lagos estudiados, el paradigma de estado trófico-COD (Rhode, 1968) y más recientemente el modelo de estado trófico-CODC (materia orgánica disuelta coloreada) (Williamson et al., 1999) describen satisfactoriamente la variedad de ambientes acuáticos presentes en Tierra del Fuego. Estas variables ambientales influyen las cadenas tróficas planctónicas alterando el ambiente físico y químico de los ambientes. Las investigaciones llevadas a cabo en esta tesis pusieron de manifiesto importantes diferencias en la estructura de las comunidades microbianas entre los cuerpos de agua estudiados. Siguiendo un gradiente de Chl *a*, desde lagos claros oligotróficos y lagos húmicos hasta lagunas de castor y lagos de estepa, se encontraron marcados patrones de incremento de los cocientes autótrofos/mixótrofos y autótrofos/heterótrofos. Estas tendencias también fueron halladas en el conjunto de lagos del gradiente latitudinal extenso analizado (capítulo 3) y también con los encontrados y descritos por del Giorgio y Gasol (1995), que reportaron una disminución en el cociente biomasa heterotrófica/autotrófica en las comunidades planctónicas de agua dulce de lagos templados a lo largo de gradientes de biomasa fitoplanctónica.

Tierra del Fuego alberga dos tipos de sistemas con bajos nutrientes: los grandes lagos oligotróficos y los lagos húmicos, ambos caracterizados por una baja biomasa fitoplanctónica (expresada como Chl *a*). Algunos autores han reportados bajos contenidos de clorofila por unidad de fósforo en sistemas húmicos, lo que podría deberse a la baja disponibilidad de luz por el elevado color del agua o a la baja biodisponibilidad del fósforo (Phillips et al., 2008 y citas allí mencionadas). Al margen de las diferencias evidentes en la morfometría y propiedades limnológicas entre los lagos profundos oligotróficos y los húmicos, las comunidades planctónicas microbianas también mostraron cierto grado de similitud, tanto en lo que respecta a las especies como a los grupos funcionales fitoplanctónicos. Estos sistemas típicamente muestran una dominancia de algas flageladas incluidas en los grupos funcionales X3, E y L0, y particularmente de algas que presentan la capacidad de ingerir presas. En un estudio preliminar (Saad, 2011) y en esta tesis (ver capítulo 5) se demostró experimentalmente la ingestión de presas por estos grupos en el lago Victoria y Escondido. El éxito

ecológico de estos organismos puede ser explicado de diferentes razones. Por un lado, la mixotrofia le confiere a estos organismos la capacidad de incorporar nutrientes a través de la ingestión de presas, una estrategia especialmente beneficiosa en situaciones de excases de nutrientes y buen clima lumínico, por lo que los mixótrofos tienden a dominar por sobre los autótrofos estrictos en grandes lagos oligotróficos (Medina Sánchez et al., 2004; Pålsson et al., 2005). Por otro lado, en ambientes con aguas coloreadas caracterizadas por valores relativamente menores de K_d y alta absorbancia a 320nm, pueden prosperar los flagelados mixotróficos que tienen la capacidad de cambiar de autotrofia a heterotrofia para suplementar el ingreso de carbono bajo limitación lumínica. Como fue mencionado anteriormente, los lagos húmicos de Tierra del Fuego están caracterizados por bajas concentraciones de nutrientes y aguas coloreadas; por lo tanto, ambas condiciones contribuyen para crear un escenario propicio para las algas mixotróficas. Lagos boreales similares muestran una estructura fitoplanctónica comparable (ej. Isaksson, 1999; Bergström et al., 2003; Willén, 2003; Poniewozik et al., 2011). Por otro lado, los resultados de este estudio también mostraron que en lagos oligotróficos los protistas heterotróficos eran proporcionalmente más abundantes que los estrictamente autotróficos.

Las lagunas de castor fueron los sistemas con mayor grado de trofismo entre los ambientes de la porción sur-oeste de la región de Tierra del fuego, probablemente como consecuencia de la introducción del castor (*Castor canadenses*) (Anderson et al., 2009). Uno de los procesos por el cual las especies invasoras pueden impactar todo un ecosistema es a través de la ingeniería ecosistémica, creando, destruyendo o modificando hábitats (Crooks, 2002). Las comunidades planctónicas difirieron entre las diferentes lagunas de castor y entre las fechas de muestreo, probablemente debido a que estos sistemas de pequeño tamaño son más influenciados por las condiciones ambientales. Además, las lagunas de castor podrían presentar diferentes intensidades de disturbio relacionadas con el estadio de la colonización de estos roedores, lo que se evidencia en el análisis de cluster realizado en este estudio donde este tipo de cuerpo de agua no conformó un grupo distintivo. Los grupos funcionales representativos en estos cuerpos de agua son X1, X2, Y y P, típicos de aguas ricas en nutrientes.

En coincidencia con los datos reportados por Mariazzi et al. (1987), los lagos poco profundos de la estepa mostraron un estatus trófico un relativamente alto y valores de

conductividad más altos que los ambientes situados en la zona cordillerana. Como fuera descrito por Quirós y Cuch (1985) y Quirós y Drago (1999), los lagos patagónicos localizados en la región ecotonal de la estepa se caracterizan por presentar concentraciones relativamente altas de fósforo total y Chl *a* fitoplanctónica, variando desde mesotróficos a eutróficos. Además, la extremadamente alta conductividad registrada en el lago de los Cisnes, se podría explicar por la contribución de minerales por la ingesión / regresión marina en esta región durante el Cuaternario (Conzonno y Ulibarrena, 2010). Las lagunas de la estepa son típicamente afectadas por el fuerte viento de la región, lo que provoca una alta turbidez debido a la resuspensión, promoviendo el flujo de nutrientes a la columna de agua. Estas condiciones ambientales favorecen el desarrollo de altas densidades de fitoplancton, particularmente clorofitas y diatomeas, representadas por los grupos funcionales F, J, X1 y P. El predominio de estos grupos en los lagos someros estudiados concuerda con la estructura fitoplanctónica reportada para otros lagos de la estepa patagónica (ej. Izaguirre, 1993; Díaz et al., 2000; Gonçalves et al., 2010).

El enfoque de grupos funcionales del fitoplancton aplicado a este estudio (Reynolds et al., 2002 - Actualizado por Padisák et al., 2009) permitió una buena discriminación de los diferentes tipos de cuerpos de agua. El análisis multivariado basado en esta clasificación mostró una separación de los lagos de acuerdo a su estructura del fitoplancton.

A lo largo del gradiente de estado trófico también se percibió una variación tanto en la abundancia del bacterioplancton como del picoplancton autotrófico, registrándose valores más altos en los lagos con mayor estado trófico. Estos resultados se condicen con los patrones comúnmente descritos para otros conjuntos de lagos (ej. Bird y Kalff, 1984; Cole et al., 1988; Gasol y Duarte, 2000; Bell y Kalff, 2001; Schiaffino et al., 2013). Con respecto a la composición de grupos de bacterias heterótrofas, los tres grupos hallados dominantes en los lagos estudiados (Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria y Actinobacteria) coinciden con los encontrados por Schiaffino et al. (en prensa) en un estudio que abarcó un gran conjunto de lagos en Patagonia. Entre estos grupos, las Betaproteobacteria que comúnmente se consideran dominantes en ambientes continentales (Glöckner et al., 1999) sólo se hallaron en grandes abundancias en los lagos claros oligotróficos. Dado que este grupo de bacterias sería típicamente

oportunista con capacidad de desarrollarse rápidamente ante aumentos de COD y N (Bertoni et al., 2008), se podría especular que la dominancia de este grupo bacteriano coincide con el momento de mayor aporte de nutrientes y carbono por el descongelamiento de la nieve en primavera, y que se vuelve más notorio en estos lagos que presentan muy bajos nutrientes y carbono. Las actinobacterias en cambio fueron halladas en mayor densidad en los Ponds. Pérez y Sommaruga (2007) reportó mayores abundancias de este grupo bacteriano en ambientes con elevada concentración de COD fotodegradado; de tal manera, las lagunas de castores, serían un lugar propicio para su desarrollo, dado su elevada concentración de COD, tanto de origen alóctono como autóctono. Los lagos húmicos, en cambio, estuvieron dominados principalmente por las Alphaproteobacteria. Si bien estos ambientes presentan elevado COD, éste es de origen alóctono y por ende más recalcitrante, lo que probablemente incida en una menor fotodegradación del COD. Si bien en general se considera a las alfaproteobacterias como puramente marinas (Glockner, 1999) también experimentalmente fue demostrado que son capaces de dominar en ambientes de agua dulce con elevada presión de predación (Pernthaler et al., 1997 y Salcher et al., 2005). Como se verá en el capítulo 6, los lagos húmicos son los ambientes donde se dan los mayores impactos de fagotrofia lo que coincidiría con la abundancia de este grupo bacteriano en estos ambientes. Estos tres grupos bacterianos comúnmente se encuentran fuertemente influenciados por el COD, hecho que se condice con lo reportado por Schiaffino et al. (en prensa), donde el COD fue una de las variables con mayor peso en la estructuración de la comunidad bacteriana en los lagos Patagónicos abarcados en ese trabajo.

En lo que respecta al picoplancton autotrófico, los lagos oligotróficos y cuerpos de agua húmicos exhibieron las abundancias más bajas, y las Pcy ricas en PE dominaron en todos los sistemas claros oligotróficos. Este patrón se ajusta a lo descrito en la revisión de Callieri (2008), que incluye datos obtenidos en una amplia gama de cuerpos de agua y condiciones tróficas de otras partes del mundo (Vörös et al., 1998), y datos obtenidos en lagos en la región de Patagonia Norte (Callieri et al., 2007). Más recientemente, un estudio basado en citometría de flujo en el que se analizaron 32 cuerpos de agua patagónicos localizados a lo largo de un gradiente latitudinal y trófico (Schiaffino et al., 2013), confirmó que las Pcy ricas en PE estaban mejor representadas en los lagos oligotróficos, mientras que las ricas en PC en los eutróficos. Por otra parte, los resultados de esta tesis mostraron que las Peuk fueron más abundantes en los lagos

húmicos y estanques que las Pcy, resultado que se condice las conclusiones de Schiaffino et al. (op. cit.), quienes informaron que las Peuk presentaron mayores abundancias que las Pcy en condiciones de limitación de la luz y / o mayor estado trófico. Según algunos estudios, las Peuk parecerían verse favorecidas en condiciones limitantes de luz (Stockner y Antia, 1986; Craig, 1987; Søndergaard, 1991; Vörös et al., 2009). Sin embargo, en los lagos esteparios que son relativamente turbios esta tendencia no fue observada, lo que indica que probablemente otros factores ambientales pueden estar involucrados. Contrariamente al patrón anteriormente señalado, estos ambientes de alta conductividad presentaron las densidades máximas de Pcy; tal como se ha reportado en otros estudios las Pcy parecen ser muy tolerante a una gran variedad de ambientes, incluyendo aquellos con condiciones de alta salinidad (Van Hove et al., 2008).

Nuestros estudios demostraron que los ciliados sólo fueron abundantes en dos lagunas de castor, lo que probablemente puede ser explicado por el mayor estado trófico de estos sistemas, ya que los ciliados tienden a desarrollar abundancias mayores en ambientes desde meso a eutróficos (Šimek et al., 1995 y citas allí mencionadas). Es importante mencionar que estudios realizados en lagos oligotróficos de Patagonia Norte demostraron la gran importancia de los ciliados en las tramas tróficas de estos ambientes (ej. Queimaliños et al., 1999; Modenutti y Balseiro, 2002; Balseiro et al., 2004), donde una alta abundancia de ciliados mixotróficos generalmente se encuentra asociada a las máximas concentraciones de clorofila del metalimnion. Dado que nuestros estudios fueron llevados a cabo en el epilimnion, no se puede descartar la existencia de mayores abundancias de ciliados y otros grupos planctónicos a profundidades superiores en los lagos profundos, lo que no fue analizado en esta tesis. Por ejemplo, Bird y Kalff (1989) encontraron altas concentraciones de algas mixotróficas (*Dinobryon* y *Ochromonas*) en el metalimnion de un lago-oligo mesotrópico en Quebec.

Se concluye que a lo largo del gradiente trófico de los lagos estudiados existe un cambio en la estructura de la comunidad microbiana que es el soporte principal para la producción secundaria. En el extremo oligotrófico del gradiente la movilización de la energía es fundamentalmente llevada a cabo por las bacterias, y por lo tanto el bucle microbiano tiene una gran importancia; en estos ambientes de bajos nutrientes las diferentes algas mixotróficas (dependiendo de las condiciones de luz) predominan por

sobre los autótrofos estrictos, y la fuente de energía principalmente es materia orgánica alóctona. De acuerdo a lo demostrado por otros autores (ej. Raven, 1997; Jones, 2000), yendo hacia el extremo más eutrófico del gradiente trófico, la movilización de la energía comienza a ser guiada por el fitoplancton; en este contexto, donde los nutrientes no son limitantes, la mixotrofia no es la estrategia dominante, predominando la autotrofia, y por lo tanto la principal fuente de energía para los niveles tróficos superiores sería la materia orgánica del fitoplancton (autóctona). De esta manera, las características adaptativas de los protistas mixotróficos, que permiten a los organismos prevalecer cuando las concentraciones de nutrientes, las condiciones de luz y / o la abundancia de presas no satisfacen la demanda de los protistas puramente fototróficos o heterótrofos, repercuten en las tendencias que son evidenciadas en el metabolismo pelágicos de los lagos.

CAPÍTULO 5

**Comunidades planctónicas microbianas en lagos de la meseta
del lago Strobel (Santa Cruz, Argentina):**

¿Existen evidencias de impacto de la introducción de peces?

Introducción

El cambio en el uso de la tierra, la introducción de especies y la interacción de estas modificaciones antrópicas con el cambio climático constituyen las variables de mayor impacto sobre los humedales (Gibbs, 2000; Erwin, 2009). En la Patagonia, si bien los humedales ocupan casi el 5 % del territorio, los ubicados en la meseta patagónica recibieron comparativamente menos atención que los de la región andina, probablemente debido a la lejanía de los ambientes, que en algunos casos son de difícil accesibilidad (Izaguirre y Saad 2014). En la zona extrandina y en la estepa patagónica estos ecosistemas son esenciales para sostener numerosas especies de fauna y flora silvestre, muchas de ellas de carácter endémico (León et al., 1998).

De acuerdo al modelo ampliamente conocido desarrollado por Scheffer et al. (1993), los lagos someros pueden presentar dos estados de equilibrio, uno de ellos “claro” con alta transparencia del agua, baja biomasa fitoplanctónica y predominio de macrófitas sumergidas, y otro “turbio” con baja transparencia del agua, alta biomasa fitoplanctónica y sin macrófitas sumergidas. Estos dos estados de equilibrio fueron propuestos en este modelo como estados alternativos, ya que exhiben tendencias homeostáticas debido a retroalimentaciones positivas. El aumento de nutrientes en cuerpos de agua someros lleva un a incremento en la biomasa de fitoplancton, con el consiguiente descenso en la transparencia del agua. En estado turbio, la penetración de la luz limita el desarrollo de macrófitas, lo que a su vez genera que el ambiente sea más propenso a la resuspensión de sedimentos generada por el viento, aumentando de esta manera aún más la turbidez. En el caso contrario, donde un ambiente presenta un gran desarrollo de macrófitas sumergidas, la resuspensión es menor y se favorece la sedimentación. Asimismo, algunas macrófitas desarrollan sustancias alelopáticas que limitan el desarrollo del fitoplancton y además brindan refugio al zooplancton que depreda sobre el fitoplancton (Schallenberg y Sorrell, 2009 y citas allí mencionadas). Estos dos estados pueden coexistir en un amplio rango de nutrientes, sin embargo ciertas perturbaciones o disturbios pueden desencadenar el rápido pasaje de un estado a otro. Dado que no siempre es posible establecer la ocurrencia de estados alternativos de equilibrio en los lagos naturales, es decir comprobar el cambio entre uno y otro estado a lo largo del tiempo, en un contexto más general se ha comenzado a utilizar el término “regimen” para describir a cada uno de los mismos (Scheffer, 2009).

En los sistemas acuáticos la estructura de las tramas tróficas está determinada principalmente por controles de tipo “top-down” (de arriba hacia abajo), es decir la regulación de un nivel trófico inferior ocurre a través de la predación por parte de un nivel superior, y “bottom-up” (de abajo hacia arriba) donde la regulación de la cadena trófica ocurre vía los productores primarios ó la disponibilidad de nutrientes. La teoría de las cascadas tróficas está centrada en las interacciones predador-presa como motores de cambios en la biomasa o productividad de las comunidades acuáticas (Pace et al., 1999) y demarca que los controles bottom-up son los que definen el potencial productivo de un lago, mientras que las modificaciones de ese potencial se deben a las interacciones top-down. De esta manera por medio de este concepto de cascadas tróficas se puede explicar la diferencia en la productividad en lagos con igual ingreso de nutrientes (Carpenter et al., 1985).

La introducción de peces omnívoros en ambientes acuáticos someros está asociada a efectos directos e indirectos sobre las comunidades acuáticas, por un lado la predación sobre el zooplancton puede generar un intenso efecto top-down que propicia el desarrollo del fitoplancton (Blanco et al., 2008), y por otro lado la alimentación sobre organismos bentónicos genera una remoción del fondo que provoca resuspensión de nutrientes, es decir un efecto bottom-up que también propicia el desarrollo del fitoplancton (Schaus et al., 2002). Ambos procesos fomentan el cambio y/o permanencia al estado turbio de los cuerpos de agua (Blanco, 2010).

Las introducciones de especies de fauna y flora exóticas han sido prácticas comunes por más de un siglo en la Patagonia. En numerosos sistemas acuáticos se han introducido salmónidos y se registra también la traslocación de especies nativas de peces (Perotti et al., 2005). Paradójicamente, la antigüedad de estas introducciones provocan que la actitud por parte de políticos y el público en general hacia estos salmónidos exóticos no sea diferente que hacia la biota nativa, existiendo ciertas ambigüedades con respecto al manejo y control de estos organismos (Pascual et al., 2002). En particular en los lagos naturalmente sin peces de la meseta del Lago Strobel (Santa Cruz), la siembra de truchas arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) se inició alrededor de 1940 pero durante los últimos 20 años hubo un incremento en esta producción como una alternativa productiva a la tradicional cría de ovejas (Lancelotti et al., 2009). Esta región presenta una gran abundancia y diversidad de lagunas, y se registran ambientes con diferentes

grados de impacto de la introducción de truchas; por lo tanto, la región resulta un escenario ideal para el estudio de las comunidades planctónicas microbianas en estos diferentes sistemas.

El objetivo general de los estudios comprendidos en este capítulo fue analizar las posibles diferencias en las comunidades planctónicas microbianas entre lagos de la meseta del Strobel que difieren en: régimen (claro, turbio orgánico, turbio inorgánico), abundancia de macrófitas sumergidas, y presencia o ausencia de peces introducidos.

Se plantearon las siguientes **hipótesis** de trabajo: **1)** Los lagos con introducción de truchas en la meseta del Strobel presentan una mayor abundancia en sus comunidades planctónicas autotróficas. **2)** La composición de las comunidades autotróficas difiere entre los lagos de la meseta del Strobel con y sin introducción de truchas.

Área de estudio

La Meseta del lago Strobel está ubicada en el centro-oeste de la Provincia de Santa Cruz. Desde el punto de vista geológico, está constituida por un lecho de basalto alcalino de un espesor de hasta 50 m que fue originado por actividad tectónica durante el Terciario y el Cuaternario (Panza y Franchi, 2002). Tiene una superficie plana de 3000 km² con una pendiente leve en dirección oeste-este, alcanzando altitudes de 1200 msnm en el oeste y de 700 msnm en el este. Presenta depresiones naturales que reciben el agua del derretimiento de la nieve invernal conformando un sistema de lagunas, muchas de ellos de carácter temporario. El número de cuerpos de agua alcanza un total de 2000 lagunas durante los años húmedos y alrededor de 700 lagunas estables (Lancelotti, 2009).

La región presenta un clima frío y seco con temperaturas mínima y máxima media de 2,9 y 14°C respectivamente y precipitaciones anuales de entre 200 y 400mm, que se encuentran extendidas durante todo el año, siendo en forma de nieve en invierno. El viento predominante es del oeste, con una mayor intensidad en verano que en invierno, y velocidades superiores a los 9 m/s en enero y del orden de 6 m/s en julio. Esta área se caracteriza por su elevada nubosidad con un porcentaje medio del cielo cubierto del 60%. La información meteorológica fue tomada de la estación ubicada en Gobernador Gregores, que es la localidad más cercana a la meseta del Strobel (40km del límite sudeste de la meseta) (www.mineria.gob.ar/estudios/irn/santacruz/z-2.asp). Dada

la inclemencia climática, las lagunas de la meseta permanecen cubiertas por nieve y hielo desde finales de abril hasta mediados de noviembre (Lancelotti, 2009).

Los cuerpos de agua de esta región fueron clasificados en turbios de alta conductividad (con alto contenido de minerales volcánicos), pequeños vegetados, grandes vegetados y grandes sin vegetación por Lancelotti et al. (2009), lo que constituyó la primer caracterización limnológica para la región. Para realizar esta clasificación estos autores se basaron en variables limnológicas, topográficas y geográficas. En los cuerpos de agua vegetados, la cobertura de la macrófita sumergida dominante, *Myriophyllum quitense*, muestra una gran variación estacional, alcanzando en algunos casos una cobertura del 95 % de la superficie total del lago. Los cuerpos de agua de la meseta constituyen el hábitat para muchas especies de aves acuáticas, incluyendo algunas que se encuentran amenazadas, como el “Macá Tobiano” (*Podiceps gallardoi*), una especie endémica de las mesetas de la provincia de Santa Cruz.

Para el presente estudio se seleccionaron 16 cuerpos de agua (correspondientes a los cuatro tipos de ambientes descritos en las investigaciones previas), incluyéndose ambientes con y sin introducción de peces. Los ambientes estudiados y denominación de los mismos (no oficial) es: dos lagos no vegetados sin peces (NVSP): Pifie y Rod 18; cinco lagos vegetados sin peces (V): Justita, Las Coloradas, S94, S64, Nieve; siete lagos no vegetados con peces (NVCP): Herradura, 9, 8, Temp, Campamento, Potrerillo y dos lagos turbios inorgánicos (T): Buda y X. La posición geográfica de los cuerpos de agua fue obtenida con GPS (sistema de posicionamiento geográfico; Garmin, KS, EE.UU.) y se muestra en la figura 5.1.

Se llevaron a cabo dos campañas de muestreo, una durante la primavera tardía del 2011 y otra durante el verano del 2013. Prácticamente todas las lagunas NVCP y V fueron muestreadas en ambas oportunidades. En el caso de las lagunas T solamente fueron incluidas en el muestreo de 2011 y las NVSP en el de 2013, en ambos casos debido a dificultades logísticas y climáticas.

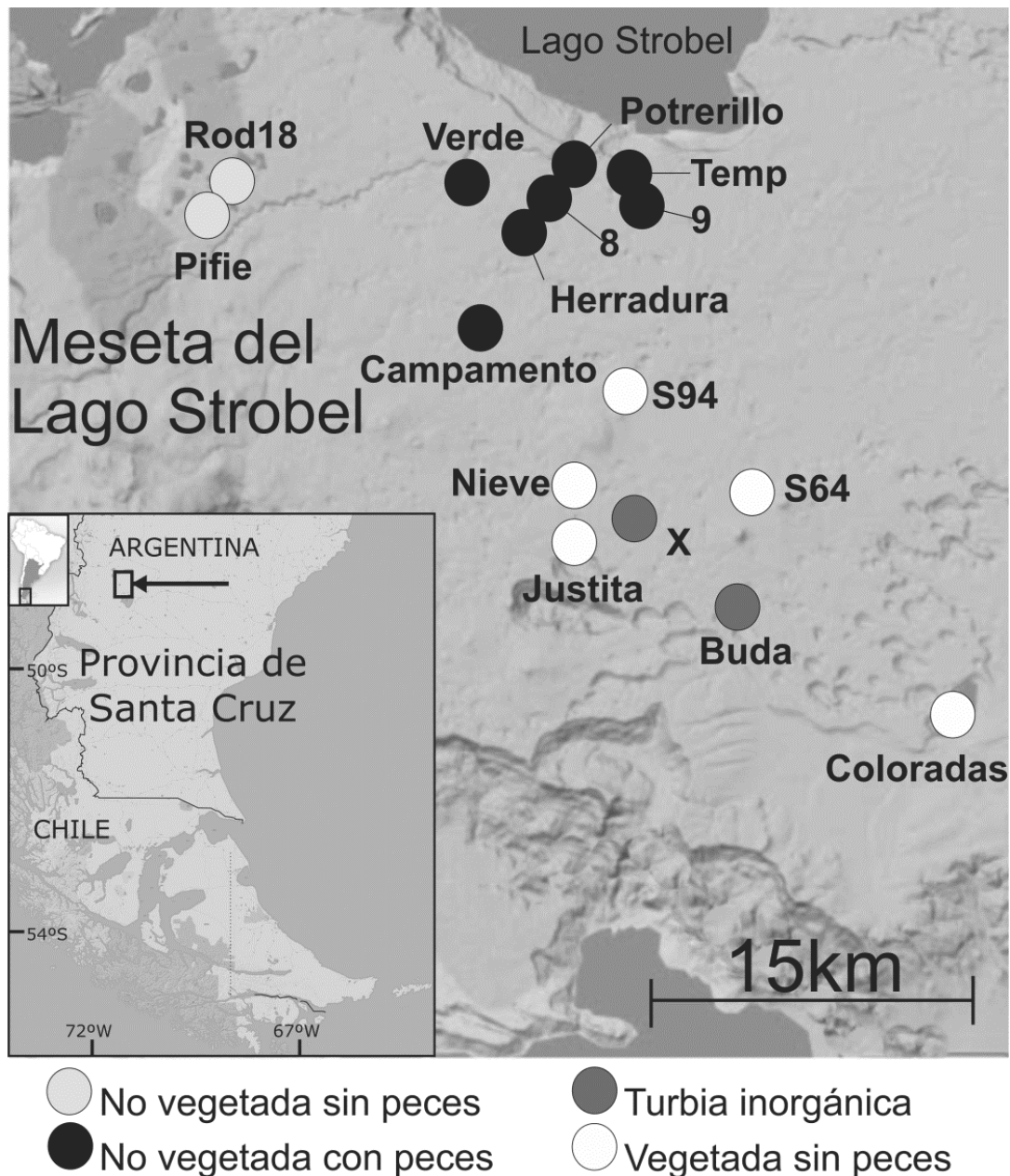


Figura 5.1: Posición geográfica de las diferentes lagunas en la meseta del Strobel incluidas en el estudio.

Resultados

Los estudios realizados en las lagunas de la meseta del Strobel evidenciaron diferencias tanto en sus características físicas y químicas como en la estructura de las comunidades planctónicas microbianas. Dada las grandes diferencias encontradas entre las lagunas entre los dos muestreos realizados (primavera 2011 y verano 2013) se presentan los resultados y análisis para cada campaña por separado.

El análisis discriminante basado en las variables físicas y químicas para cada campaña, permitió separar las lagunas según la clasificación previamente mencionada, con el agregado de las lagunas con siembra de peces, corroborando de esta manera la homogeneidad de los grupos establecidos (Fig. 5.2 a y b).

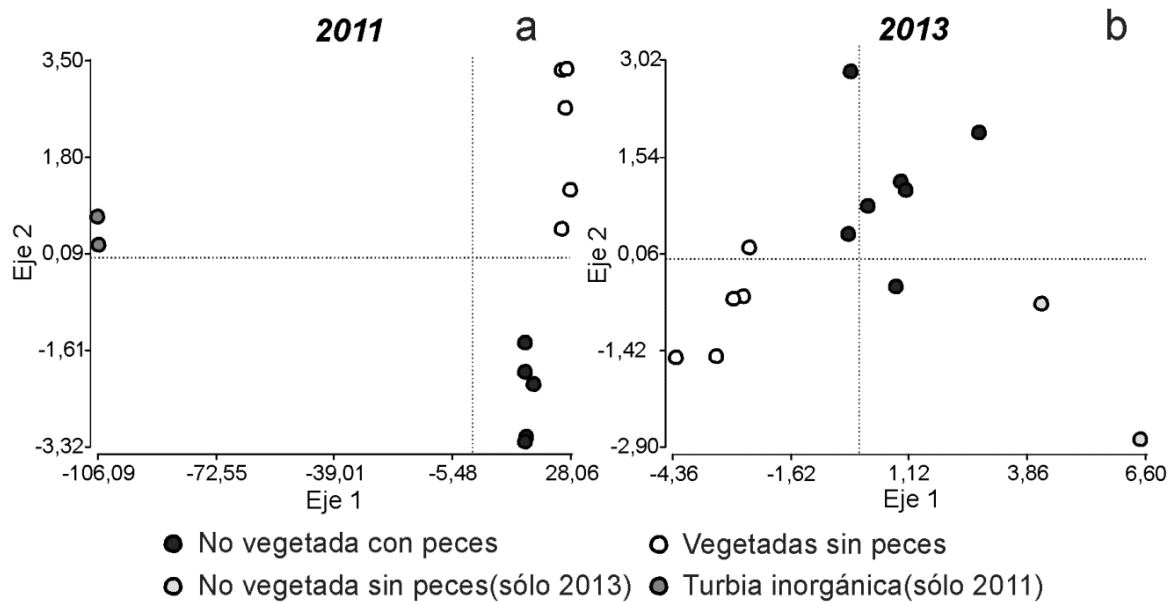


Figura 5.2: Biplot del análisis discriminante realizado basado en los datos físicos y químicos de las lagunas de la meseta del Lago Strobel clasificadas según los cuatro tipos principales. a: muestreo de primavera del 2011. b: muestreo de verano del 2013.

El análisis de clasificación cruzada mostró una correcta clasificación de las lagunas en el 100% de los casos para ambas fechas del muestreo. Con el fin de evaluar las diferencias entre los grupos de lagos se llevaron a cabo análisis de la varianza multivariados, donde ambas campañas resultaron significativamente diferentes (2011: $F_{Pillai}=7,44$, $GL_{numerador}=14$ $GL_{denominador}=8$, $p=0,0038$; 2013: $F_{Pillai}=2,79$, $GL_{numerador}=14$ $GL_{denominador}=12$, $p=0,04$). Para las variables consideradas todos los grupos difirieron entre sí en el 2011 (tabla 5.1), en cambio en el 2013 las lagunas que conformaron grupos distintivos fueron las lagunas NVSP y V, mientras que las NVCP no difirieron entre estos otros dos grupos (tabla 5.1).

Tabla 5.1: Comparación entre los tipos de lagos estudiados dentro del MANOVA utilizando el Test de Hotelling. Los números en las filas conforman los vectores medios para cada tipo de lago. Medias con letras diferentes son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$). Cond= conductividad; Chl *a*= clorofila *a*; FRS= fósforo reactivo soluble; COD=Carbono Orgánico Disuelto. Lagunas: NVCP= no vegetadas con peces; T= turbias inorgánicas; V= vegetadas; NVSP= no vegetadas sin peces.

Tipo de lago	pH	Cond ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	Chl <i>a</i> ($\mu\text{g l}^{-1}$)	NID (mg l^{-1})	FRS (mg l^{-1})	COD (mg l^{-1})	Kd (m^{-1})	N	
2011									
T	9,29	5670	43,5	0,11	3,06	136,8	10,99	2	A
NVCP	8,42	477	13,4	0,06	0,37	52,88	3,57	5	B
V	8,6	249,3	5,6	0,2	0,52	25,26	1,56	5	C
2013									
NVCP	8,36	581,2	3,8	0,13	0,17	33,9	1,52	7	A B
V	9,32	667,3	2,7	0,06	0,16	38,88	2,07	5	A
NVSP	8,33	245,9	5,8	0,04	0,79	20,7	1,14	2	B

Las lagunas T estuvieron caracterizadas por la alta conductividad y COD. A su vez estos ambientes presentaron altos valores del Chl *a*, FRS y pH (Tabla 5.2).

Las lagunas V se diferenciaron de las lagunas NVCP principalmente por sus variables relacionadas con el estado trófico. Entre ambas fechas las lagunas V no difirieron significativamente entre sí ($F_{\text{Pillai}}=11,9$, $GL_{\text{numerador}}=7$ $GL_{\text{denominador}}=2$, $p=0,08$) y presentaron características mesotróficas, con valores intermedios de Kd, COD y Chl *a*. En el caso de las lagunas NVCP, si bien en el 2011 estas lagunas mostraron mayores valores de Kd, COD y Chl *a* que las V ($F_{\text{Pillai}}=12,6$, $GL_{\text{numerador}}=7$ $GL_{\text{denominador}}=4$, $p=0,013$), en la campaña del 2013 no difirieron significativamente, registrándose una disminución en las variables relacionadas con el estado trófico.

Las lagunas NVSP (de las que sólo se cuenta con información para 2013), resultaron significativamente diferentes a las V en cuanto a las variables físicas y químicas, pero similares a las NVCP. Con un estado mesotrófico, mostraron valores intermedios de Chl*a* y menores valores de Kd y COD que los dos grupos anteriormente mencionados. En cuanto a los nutrientes disueltos, las NVSP presentaron las menores concentraciones de NID y las mayores de FRS entre estos tres grupos de lagunas mencionados (tabla 5.2).

Tabla 5.2: Valores medios y desvío estándar (entre paréntesis) de las variables físicas y químicas medidas en cada tipo de laguna en la meseta del Strobel. Chl *a*: clorofila *a*. NID: nitrógeno inorgánico disuelto, FRS: fósforo reactivo soluble, COD: carbono orgánico disuelto, Kd: coeficiente extinción vertical de luz PAR.

		T	V	NVCP	NVSP
pH	2011	9,3(0,1)	8,6(0,2)	8,4(0,3)	--
	2013	--	9,3(0,5)	8,4(0,2)	8,3(0,01)
Cond ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	2011	5670(14,1)	249,3(187,7)	477(280,2)	--
	2013	--	667,3(742,4)	581,2(404,5)	245,9(89,2)
Chl <i>a</i> ($\mu\text{g l}^{-1}$)	2011	43,5(18,5)	5,6(4,2)	13,4(4,0)	--
	2013	--	2,7(3,1)	3,8(1,2)	5,8(2,1)
NID (mg l^{-1})	2011	0,1(0,01)	0,2(0,3)	0,06(0,01)	--
	2013	--	0,06(0,02)	0,1(0,07)	0,03(0,02)
FRS (mg l^{-1})	2011	3,06(3,8)	0,5(0,5)	0,4(0,3)	--
	2013	--	0,2(0,1)	0,2(0,2)	0,8(0,6)
COD (mg l^{-1})	2011	136,8(105,8)	25,3(6,9)	52,9(29,6)	--
	2013	--	38,9(25,7)	33,9(21,4)	20,7(0,3)
Kd (m^{-1})	2011	10,9(14,1)	1,6(0,7)	3,6(1,9)	--
	2013	--	2,07(1,02)	1,5(1,3)	1,1(0,8)

Picoplancton

Las abundancias del picoplancton heterotrófico sólo difirieron significativamente en la primavera del 2011 ($F_{\text{bact}}=3,79$; $GL_{\text{bact}}=2$; $p_{\text{bact}}=0,025$), donde las lagunas T presentaron densidades significativamente menores que las lagunas V y NVCP ($5,1 \times 10^5 \text{ ind.ml}^{-1}$ en T y $2,1 \times 10^6 \text{ ind.ml}^{-1}$ tanto en V como en NVCP). En el 2013 las densidades de bacterias no difirieron entre los grupos de lagunas ($F_{\text{bact}}=1,79$; $GL_{\text{bact}}=2$; $p_{\text{bact}}=0,22$), y

presentaron densidades mayores con respecto al 2011, con una densidad media entre los tres tipos de lagunas ($3,0 \times 10^6$ ind.ml⁻¹ en V; $3,7 \times 10^6$ ind.ml⁻¹ en NVCP y $5,1 \times 10^6$ ind.ml⁻¹ NVSP) de $3,9 \times 10^6$ ind.ml⁻¹ (Fig. 5.3).

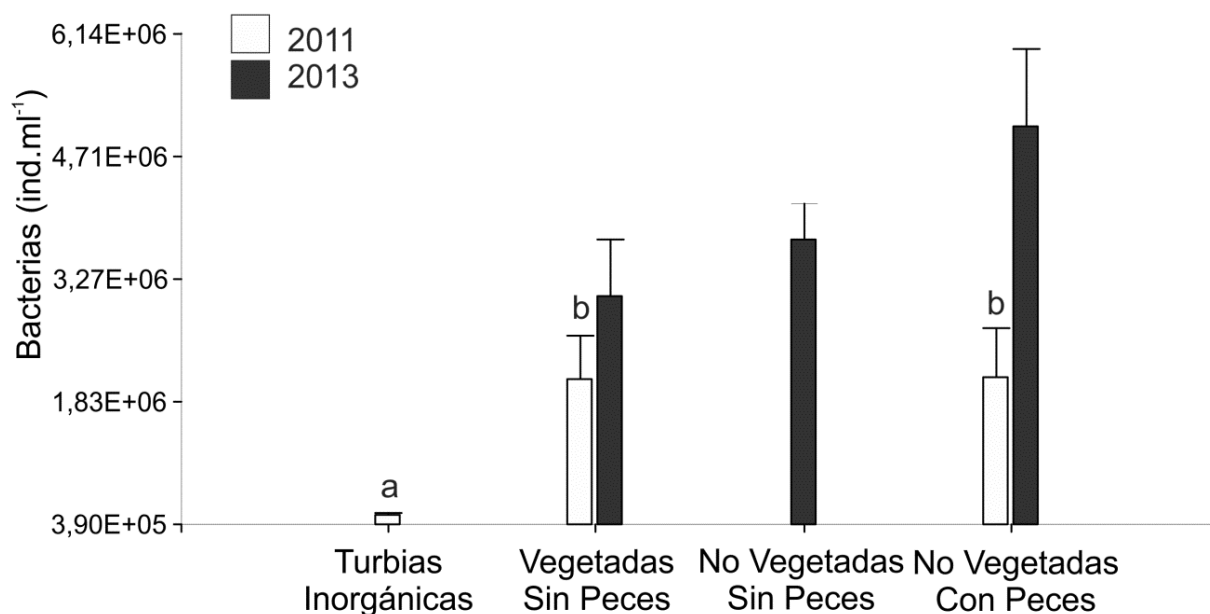


Figura 5.3: Abundancias de bacterias heterotróficas entre los tipos de lagunas de la meseta del Lago Strobel, para la campaña del 2011 y 2013. Letras diferentes significan diferencias significativas dentro de cada año ($p < 0.05$).

Con respecto a la composición de grupos bacterianos, sólo se presentan datos de lagunas del 2011 del tipo V y NVCP (Fig. 5.4a). Entre estos dos grupos de lagunas la composición fue diferente: las lagunas V estuvieron dominadas por alfa proteobacterias alcanzando entre un 47 y un 71% de toda la comunidad bacteriana; el segundo grupo mejor representado fue variable, siendo en la laguna S94 el de las actinobacterias (24%) y en Nieve el de las beta proteobacterias (17%). La composición de las dos lagunas NVCP fue bastante disímil. En la laguna Herradura dominaron las bacteroidetes y beta proteobacterias con proporciones similares (40% y 38% respectivamente), en cambio la laguna Temp presentó una mayor proporción de alfa proteobacterias (38%) seguida de actinobacterias (29%) y beta proteobacterias (23%).

El porcentaje de hibridación de la sonda EUB I-III con respecto al total de procariotas heterotróficos (recuentos con UV+DAPI) fue en promedio del 86%, con un desvío del 8% (n=4), constituyendo un valor dentro del éxito de hibridación aceptable (Fig. 5.4b).

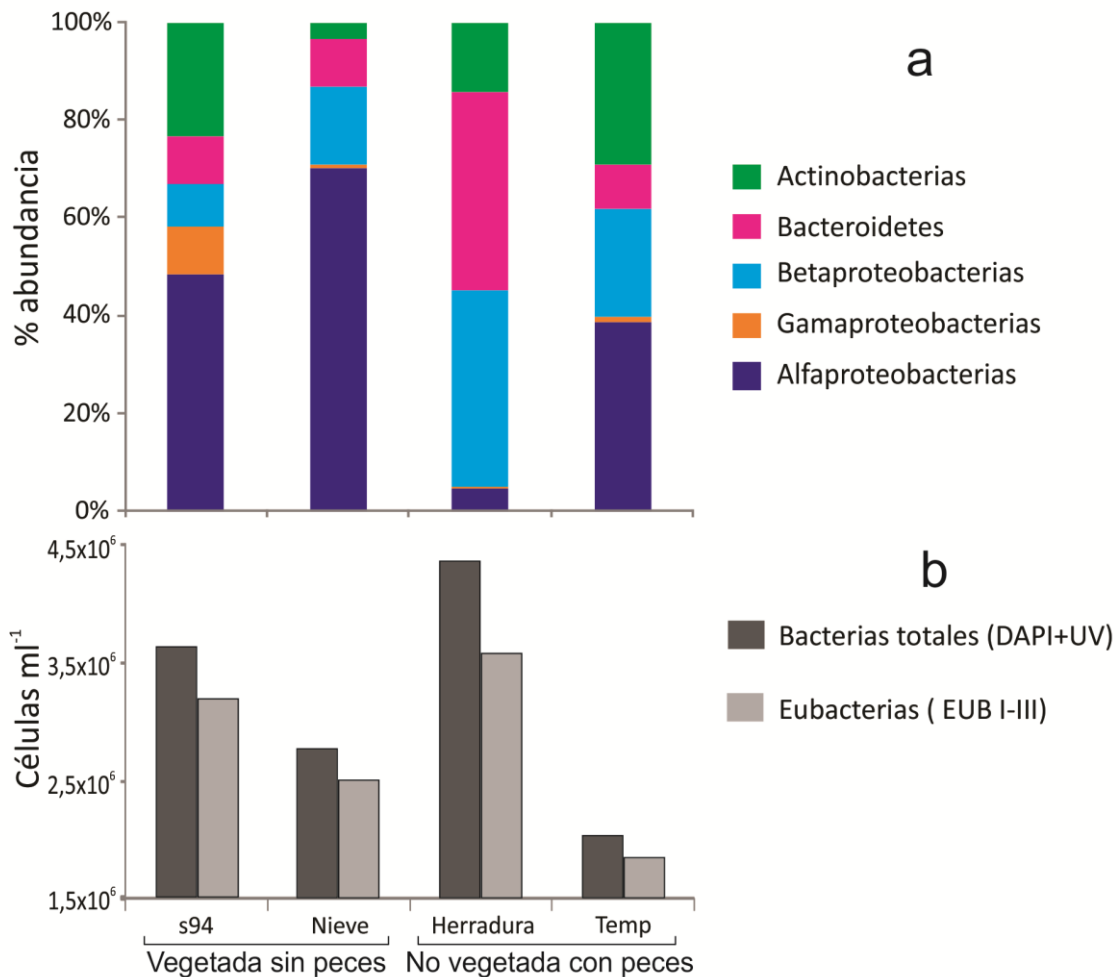


Figura 5.4: Proporción relativa de las abundancias de los diferentes grupos bacterianos en los lagos estudiados de la meseta del Strobel (a). Abundancia de procariotas heterotróficos totales (muestras teñidas con DAPI y recuentos bajo luz UV) y abundancia de eubacterias (sondas de CARD-FISH EUB I-III) (b).

Con respecto a las abundancias del picoplancton autotrófico total (recuentos con microscopio de epifluorescencia), al igual que lo observado para el heterotrófico, sólo se percibieron diferencias significativas para la campaña del año 2011 (Fig. 5.5).

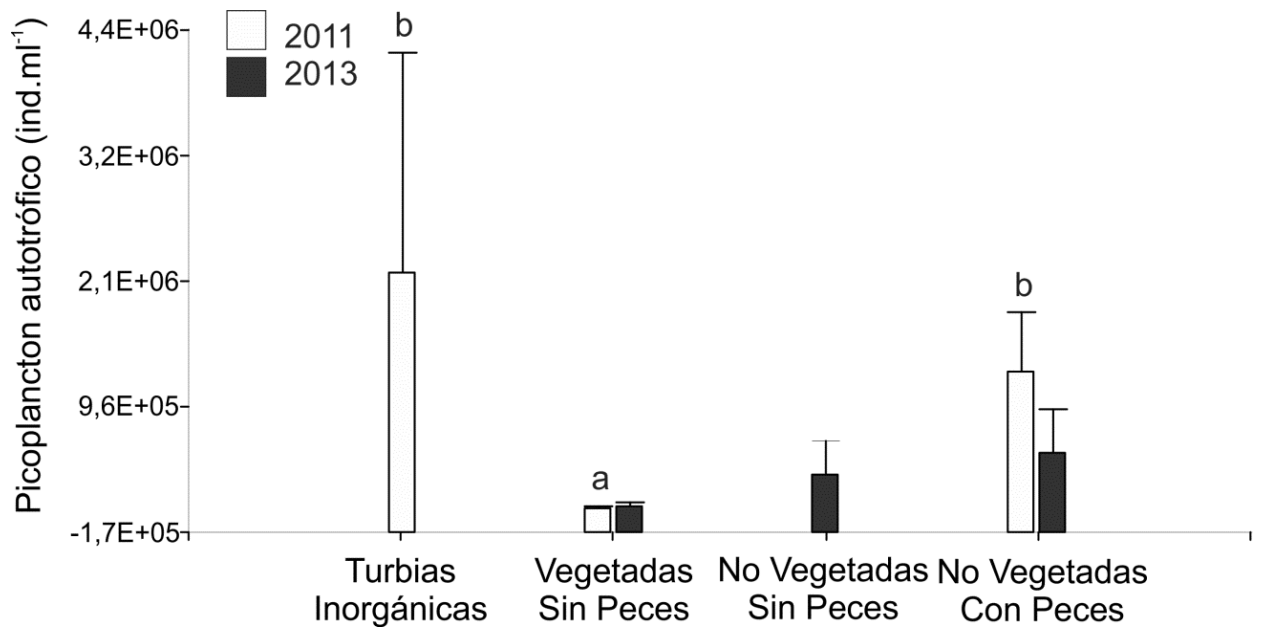


Figura 5.5: Abundancia de picoplancton autotrófico en los cuatro tipos de lagunas de la meseta del Lago Strobel para el muestreo del 2011 y 2013. Letras diferentes significan diferencias significativas dentro de cada año ($p < 0.05$). Barras expresan el error estándar.

Las lagunas T y NVCP presentaron en promedio las mayores abundancias ($2,2 \times 10^6$ ind.ml⁻¹ y $1,3 \times 10^6$ ind.ml⁻¹), sin embargo las T tuvieron una variación en los recuentos de un orden de magnitud (CV=128%). Estos dos grupos a su vez difirieron significativamente de las lagunas V, las que presentaron las densidades más bajas ($4,5 \times 10^4$ ind.ml⁻¹). En lo que respecta al año 2013 las densidades de picoplancton autotrófico no difirieron significativamente (media $3,2 \times 10^4$ ind.ml⁻¹; desvío estándar $2,4 \times 10^4$ ind.ml⁻¹).

Por otro lado, los análisis de las poblaciones citométricas revelaron diferencias en la composición de los diferentes grupos de picoplancton autotrófico entre los tipos de lagunas estudiados y entre las dos fechas de muestreo (sólo las V y las NVCP son analizadas en ambas campañas) (Fig. 5.5). En la laguna turbia X, para el año 2011 se observaron únicamente poblaciones citométricas correspondientes a picoeucariotas, no registrándose picocianobacterias. Los otros tres tipos de lagunas en cambio, además de presentar poblaciones de picoeucariotas y picocianobacterias, también mostraron la presencia de cianobacterias coloniales (en algunas lagunas y campañas).

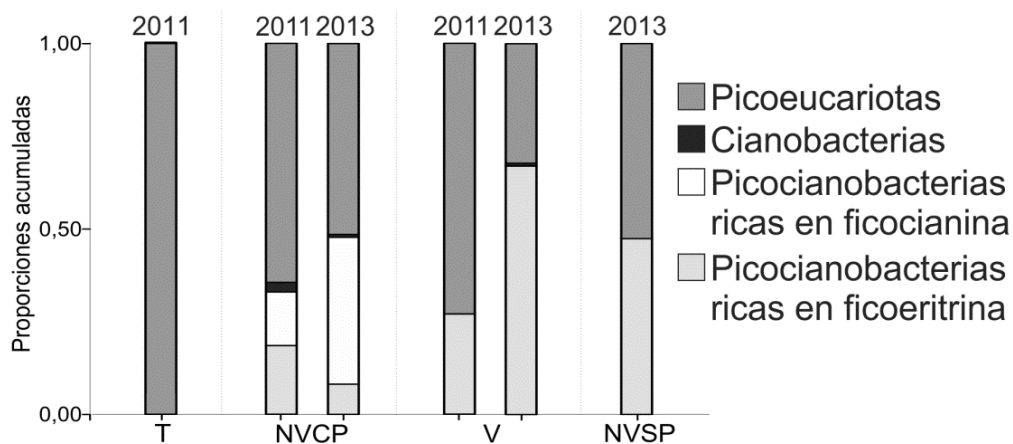


Figura 5.5: Proporción de los diferentes tipos de picoplancton autotrófico (analizados a través de citometría de flujo) y cianobacterias coloniales en los cuatro tipos de lagunas analizados para las campañas del 2011 y 2013: T= turbias, NVCP= no vegetadas con peces, V= vegetadas y NVSP= no vegetadas sin peces.

Las lagunas NVSP y V presentaron picoeucariotas y picocianobacterias ricas en ficoeritrina; además una laguna vegetada en el 2013 presentó una población pequeña de cianobacterias coloniales. Las lagunas NVCP, además de presentar las poblaciones anteriormente mencionadas, mostraron poblaciones de picocianobacterias ricas en ficocianina. A su vez, las cianobacterias coloniales estuvieron presentes en las dos fechas de muestreo. En la figura 5.7 se muestran los citogramas de 4 lagunas representativas de cada tipo de ambiente para ambas fechas.

Las abundancias totales (picoeucariotas + picocianobacterias) obtenidas a través del análisis de citometría de flujo son comparables con las obtenidas con los recuentos bajo microscopio de epifluorescencia. Las picoeucariotas fueron el grupo picoplactónico autotrófico más frecuente en todos los lagos estudiados, generalmente representadas por una o dos poblaciones prácticamente en todos los lagos estudiados, y 3 poblaciones en la laguna turbia (X) y una laguna NVSP (Rod 18) (tabla 5.3). Las picocianobacterias ricas en ficoeritrina y cianobacterias coloniales estuvieron principalmente presentes en las lagunas NVCP en la campaña del 2011, con una sustancial disminución en abundancia y riqueza durante el muestreo del 2013. Finalmente, como ya fue mencionado, las picocianobacterias ricas en ficocianina sólo estuvieron presentes en las lagunas NVCP, y con un patrón opuesto al de las picocianobacterias ricas en ficoeritrina, aparecieron en un mayor número de lagunas durante la campaña del 2013 que con respecto a la del 2011.

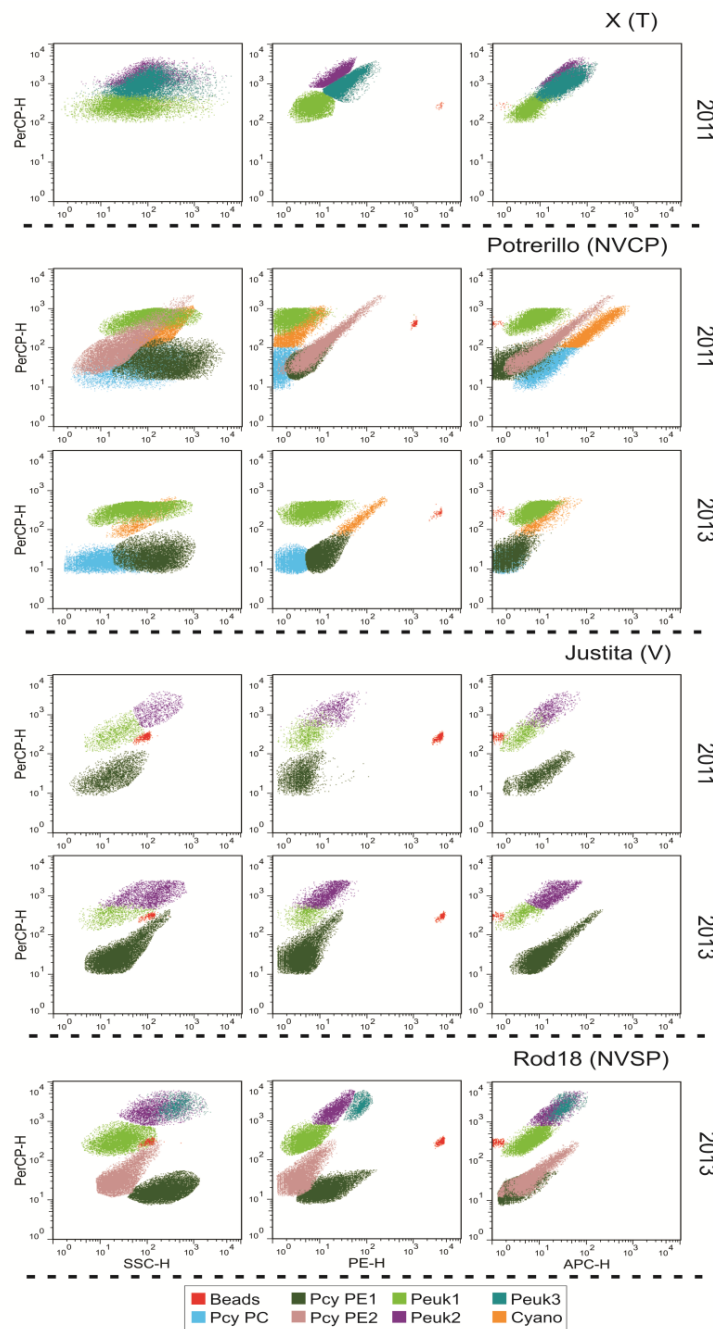


Figura 5.7: Algunos de los citogramas representativos de los tipos de lagos estudiados: X= laguna turbia (T), Potrerillo= laguna no vegetada con peces (NVCP), Justita= laguna vegetada (V) y Rod18= laguna no vegetada sin peces (NVSP). Pcy PE: picocianobacterias ricas en ficoeritrina; Peuk: picoeucariotas; Pcy PC: picocianobacterias ricas en ficocianina; Cyano: cianobacterias coloniales; Beads: esferas de latex utilizadas como referencia; SSC-H: (side scatter) dispersión de la luz a 90°; PerCP-H: fluorescencia verde, excitación con láser azul; PE-H: fluorescencia naranja, excitación con láser azul; APC-H: fluorescencia roja, excitación con laser rojo.

Tabla 5.3: Número de poblaciones de los diferentes grupos de picoplancton autotrófico presentes en los distintos lagos estudiados para las dos campañas (2011 y 2013). Además se presenta el número máximo de poblaciones y abundancia total promedio de los tipos de grupos de picoplancton agrupados en los cuatro tipos de lagunas estudiados. T= lagunas turbias; NVCP= lagunas no vegetadas con peces; V=lagunas vegetadas; NVSP=lagunas no vegetadas sin peces. Pcy PE= picocianobacterias ricas en ficoeritrina; Pcy PC= cianobacterias ricas en ficocianina; Peuk= picoeucariotas; Cyano= cianobacterias coloniales.

Tipo	Lag.	Pcy PE		Pcy PC		Peuk		Cyano	
		2011	2013	2011	2013	2011	2013	2011	2013
T	X					3			
Num. máx de poblac.		0		0		3		0	
Abund prom (ind.ml ⁻¹)		0		0		2,5E ⁶		0	
NVCP	Camp.				1		1		2
	Temp	2				2	1		
	Verde				2		1		
	Herr	1		1	1	1	2	2	
	Potre	2	1	1	1	2	2	1	1
	8			1	1	2	2	1	
9					1	1			
Num. máx de poblac.		2	1	1	2	2	2	2	2
Abund prom (ind.ml ⁻¹)		1,1E ⁵	9,2E ³	6,4E ⁴	4,4E ³	3,2E ⁴	5,8E ³	1,2E ³	990
V	Colo					1			
	Just	1	1			2	2		
	Nieve					2	2		
	S64					1			
	S94		1			2	2		1
Num. máx de poblac.		1	1	0	0	2	2	0	1
Abund prom (ind.ml ⁻¹)		752	6,2E ³	0	0	4,7E ⁴	3E ³	0	71
NVSP	R18		2				3		
	R19						2		
Num. máx de poblac.			2		0		3		0
Abund prom (ind.ml ⁻¹)			2,7E ³		0		2,9E ⁴		0

Nanoflagelados heterotróficos y ciliados

Las abundancias de nanoflagelados heterotróficos no presentaron diferencias entre los tipos de lagunas estudiados ni entre las campañas, siendo la densidad promedio de $2,7 \times 10^3 \text{ ind. ml}^{-1}$ en el 2011 y de $4,3 \times 10^3 \text{ ind. ml}^{-1}$ en el 2013. Las lagunas NVSP presentaron una mayor variación en las densidades, con un CV de 59% mientras que las T mostraron la menor variación (CV=3%) (Fig. 5.8).

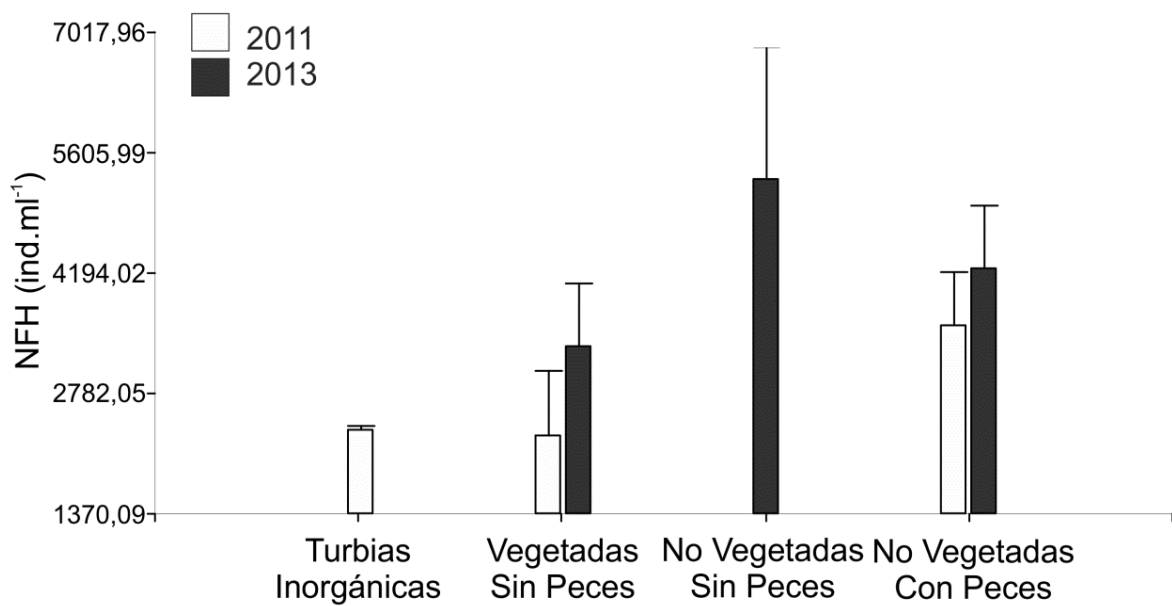


Figura 5.8: Abundancia de nanoflagelados heterotróficos (NFH) en los cuatro tipos de lagunas de la meseta del Lago Strobel estudiados. Barras expresan el error estándar.

En lo que respecta a los ciliados, se observaron diferencias entre los grupos de lagunas sólo para el muestreo de 2011. Los sistemas T presentaron las menores densidades de ciliados (100 ind.l^{-1}), mientras que las V presentaron abundancias intermedias ($2,1 \times 10^3 \text{ ind.l}^{-1}$) (Fig. 5.9). Las lagunas NVCP en el 2011 registraron las mayores densidades de ciliados, alcanzando una densidad de $8,04 \times 10^3 \text{ ind.l}^{-1}$. En el 2013 en cambio, tal como se observó para otras comunidades, no se registraron diferencias significativas entre los grupos de lagunas V, NVCP y NVSP, con un valor promedio de densidad de ciliados de $2,64 \times 10^3 \text{ ind.l}^{-1}$.

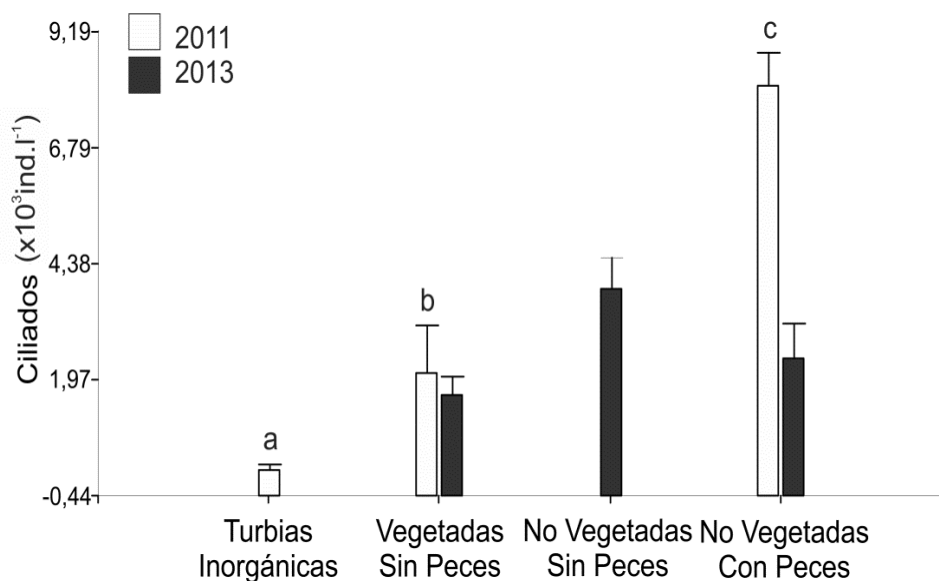


Figura 5.9: Abundancia de ciliados entre los tipos de lagunas de la meseta del Lago Strobel. Letras diferentes significan diferencias significativas ($p < 0.05$). Barras indican error estándar.

Fitoplancton

La abundancia total fitoplanctónica difirió entre los tres grupos de lagos abarcados en la campaña del 2011 ($F=6,61$; $GL=2$; $p=0,017$). En las lagunas V la abundancia fitoplanctónica fue de $2,7 \times 10^3 \text{ ind. ml}^{-1}$, valor significativamente menor que el observado en las lagunas NVCP ($1,8 \times 10^4 \text{ ind. ml}^{-1}$). Las dos lagunas T estudiadas presentaron en promedio una abundancia de $1,0 \times 10^4 \text{ ind. ml}^{-1}$, pero este valor no difirió significativamente del expresado por las otros dos tipos de lagunas dada la gran variación entre estos datos (Fig 5.10). Para la campaña del 2013, si bien se observa una tendencia de aumento de la densidad fitoplanctónica en las lagunas NVCP y NVSP, estos valores no difirieron significativamente de los correspondientes a las lagunas V. En promedio la densidad fitoplanctónica en el 2013 fue de $4,6 \times 10^3 \text{ ind. ml}^{-1}$.

Por otro lado, se observaron diferencias en la composición de los grupos de fitoplancton entre los sistemas estudiados: las lagunas T, las V y las NVSP presentaron una dominancia de Chlorophyceae (T=75%, V=48% en el 2011 y V=27%, NVSP=68% en el 2013), en cambio las lagunas NVCP tuvieron una alta proporción cianobacterias en ambas fechas de muestreo (2011=57% y 2013=78%). En las lagunas V el grupo subdominante en abundancia fue el de las criptofitas (2011=20% y 2013=26%) y en las NVSP el de las crisofitas (Fig 5.11).

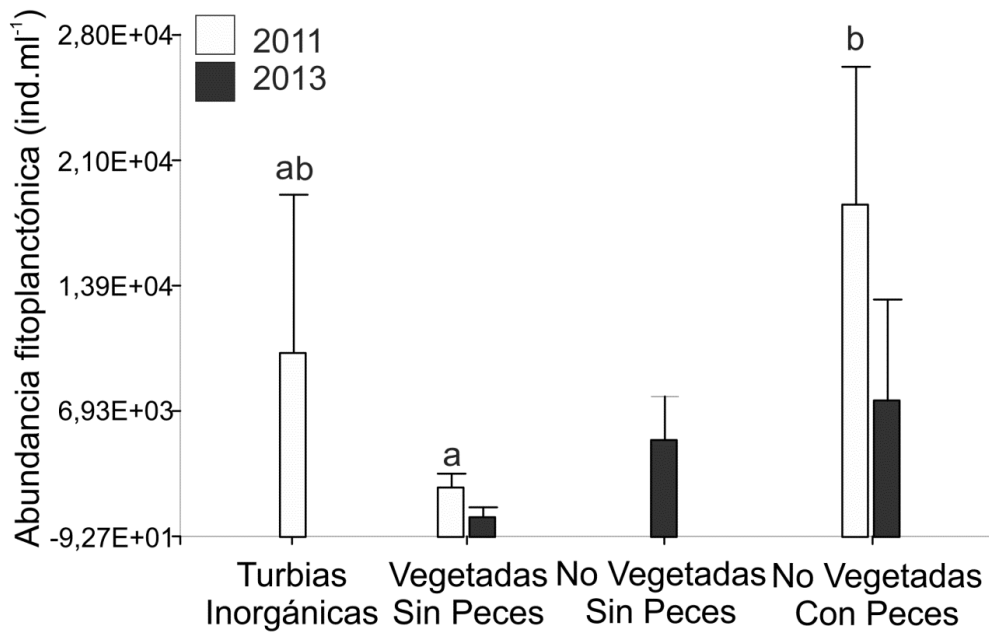


Figura 5.10: Abundancia del fitoplancton en los tipos de lagunas de la meseta del Lago Strobel, en las fechas de muestreo del 2011 y 2013. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$). Barras expresan error estándar.

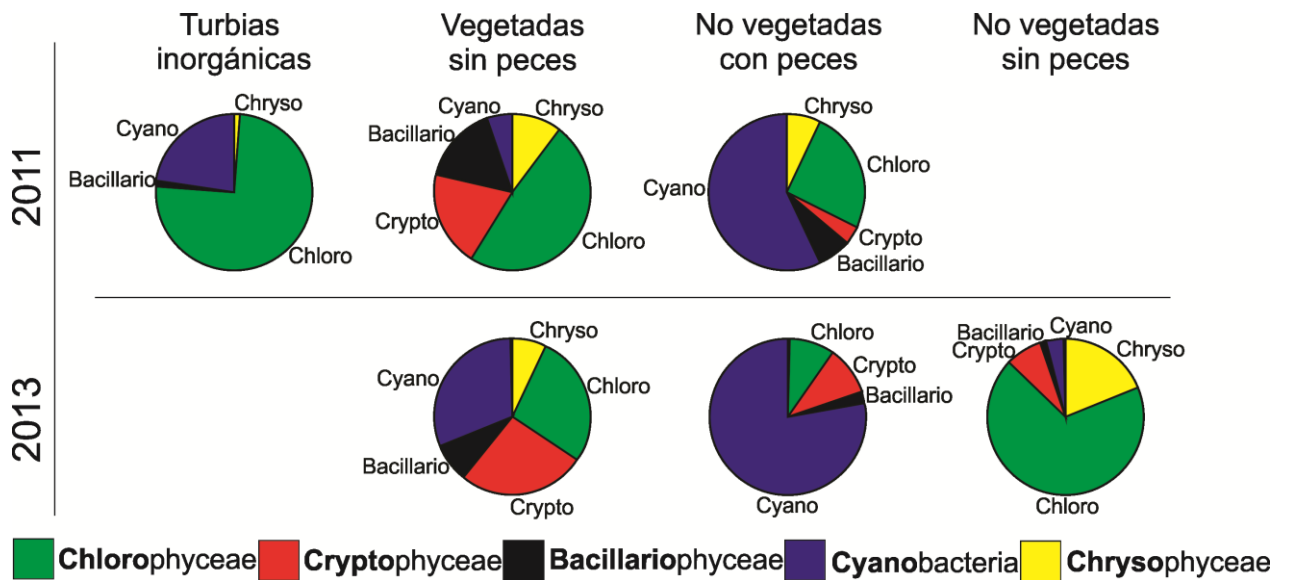


Figura 5.11: Proporción relativa de las abundancias de las clases de fitoplancton más frecuentes en los tipos de lagunas de la meseta del Lago Strobel, en los dos años muestreados.

El análisis de correspondencia canónico basado en las variables fisicoquímicas de los cuerpos de agua y la abundancia de las especies de fitoplancton realizado para cada fecha de muestreo, reflejó un ordenamiento de las lagunas estudiadas de acuerdo a los grupos previamente establecidos. En el 2011 los primeros dos ejes canónicos explicaron un 56,3% de la variabilidad total de los datos (42,8% el primer eje y 13,5% el segundo eje). El primer eje estuvo principalmente correlacionado positivamente con el Kd ($r=0,29$) y negativamente con el COD ($r=-0,45$) y el pH ($r=-0,96$). El segundo eje canónico estuvo correlacionado de manera negativa con el FRS ($r=-0,49$) (Fig. 5.12). Para el CCA del 2013 los dos primeros ejes explicaron en conjunto un 73% de la variabilidad (38,1% primer eje y 34,9% el segundo eje). El eje 1 estuvo correlacionado positivamente con el pH y el Kd ($r=0,59$ y $r=0,74$ respectivamente) y negativamente con el FRS ($r=-0,41$). El eje 2 estuvo correlacionado positivamente también con el FRS ($r=0,77$) y el Kd ($r=0,53$) y negativamente con el COD ($r=-0,50$).

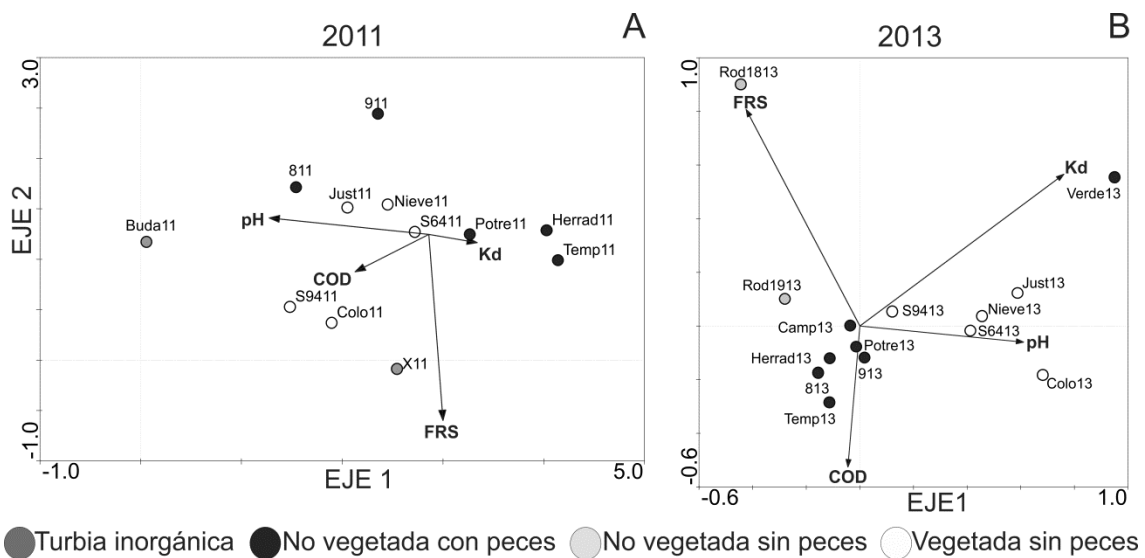


Figura 5.12: Análisis de correspondencia canónica (CCA) realizado en base a las variables fisicoquímicas y la biomasa de las especies de fitoplancton en las lagunas estudiadas de la Meseta del Strobel; A y B representan los análisis realizados para las dos fechas de muestreos.

El ordenamiento de los dos grupos de lagunas que fueron muestreados en ambas campañas fue diferente para cada fecha. Las lagunas V en 2011 mostraron una asociación inversa con el Kd y positiva con el pH y el COD. Algunas de las especies más representativas de este tipo de lagunas, fueron *Oocystis lacustris*, *Monoraphidium*

circinale, *Chlamydomonas* spp. y *Botryococcus braunii*, entre otras. En verano del 2013 las especies anteriormente mencionadas mantuvieron su peso en el ordenamiento, con el agregado de algunas criptofitas, tales como *Plagioselmis nannoplanctica* y *Cryptomonas marssonii*. En cuanto a las variables físicas y químicas, además del pH, para este muestreo se observó una correlación positiva con el Kd. Las lagunas NVCP conformaron un grupo menos consolidado en la campaña del 2011, con tres de las cinco lagunas asociadas positivamente al Kd, negativamente al pH y con predominancia de Chlorococcales (*Aphanocapsa delicatissima*, *Aphanothece caldariorum*, etc.) y Chlorococcales (*Monoraphidium* spp., etc.). Las otras dos lagunas (8 y 9) se ordenaron de manera más similar a las V. En el 2013, las NVCP conformaron un grupo más homogéneo asociado positivamente al COD y negativamente al pH y Kd. En cuanto a las especies que tuvieron peso en esta fecha, también se observaron cianobacterias coloniales (*Aphanocapsa* y *Aphanothece*) y Chlorococcales (*Oocystis lacustris*). En cuanto a los otros dos grupos estudiados de lagunas, no hubo un ordenamiento homogéneo; dentro de las T (en el 2011) una de ellas estuvo asociada a altos valores de pH y la otra a elevados de FRS. Ambas coincidieron en presentar altas densidades de diatomeas (*Nitzschia* spp., *Navicula* spp., *Gomphonema* spp.). Las NVSP (en el 2013) se ordenaron hacia valores altos de FRS con una predominancia de Chlorococcales (*Oocystis lacustris*, *Tetrastrum* sp., *Pediastrum kawraiskyi*).

Discusión

Los diferentes tipos de lagunas seleccionados en este estudio difirieron en sus variables físicas y químicas, así como también en la estructura de sus comunidades planctónicas microbianas.

Los sistemas turbios inorgánicos de la meseta del Strobel resultan un tipo de ambiente muy particular y diferente del resto de los ambientes en la meseta, donde sus aguas con altísima concentración de minerales volcánicos le confieren un aspecto lechoso y por lo tanto de gran dificultad para su estudio. A diferencia de otras lagunas turbias inorgánicas de la región pampeana (Allende et al., 2009), se caracterizan por presentar una gran abundancia de picoplancton autotrófico y relativamente alta densidad de fitoplancton $> 2\mu\text{m}$, lo que probablemente redunde en una mayor productividad que en las lagunas de la provincia de Buenos Aires. Otra diferencia entre estos sistemas radica

que en las lagunas turbias inorgánicas del Strobel los grupos fitoplanctónicos dominantes fueron las clorofitas y cianobacterias, mientras que en los sistemas turbios pampeanos se ha reportado como dominantes a las diatomeas (Allende et al., 2009; Izaguirre et al., 2012). En lo que respecta al bacterioplancton, las lagunas T mostraron las menores abundancias al igual que en las lagunas V. Sin embargo, cabe señalar que en los sistemas turbios se han observado altas densidades de picoplancton heterotrófico asociado a agregados de materia en suspensión (Lind y Dávalos-Lind, 1991), y por lo tanto no se puede descartar cierta subestimación en los recuentos debido a bacterias asociadas a las partículas.

Los sistemas V, NVCP y NVSP resultaron ambientes más comparables entre sí en cuanto a las variables físicas y químicas y en cuanto a las comunidades planctónicas microbianas que allí se desarrollan. Estos presentan características de meso a eutróficos y principalmente se encuentran diferenciados por la concentración de nutrientes disueltos y la penetración de la luz. Estas dos variables si bien son centrales en el modelo conceptual de equilibrios alternativos propuesto por Scheffer et al. (1993), es interesante discutir en qué medida este esquema es aplicable para describir las diferencias entre estos sistemas. En líneas generales durante la campaña del 2013 las lagunas que presentaron alto contenido de nutrientes, tuvieron una mayor turbidez y a su vez escaso desarrollo de macrófitas. Por el contrario, las que presentaron vegetación arraigada sumergida mostraron menores valores de turbidez y nutrientes disueltos. Estas tendencias fueron previamente reportadas para las lagunas de esta zona por Lancelotti (2009) y Lancelotti et al. (2010). Sin embargo, durante la campaña del 2013 las diferencias entre sistemas no fueron tan notorias debido principalmente a variaciones diferenciales en el nivel hídrico; en esta campaña las lagunas V sufrieron una importante disminución en el nivel hídrico, mientras que la mayoría de las NVCP (ubicadas en un sistema de encadenadas alimentadas por un curso de agua) registraron un aumento del mismo. En la meseta del Strobel se viene registrando a lo largo de los diferentes muestreos (incluidos muestreos posteriores al del 2013 no agregados en esta tesis) una continua disminución del nivel hídrico de las lagunas que no son alimentadas por cursos de agua; este cambio parece estar asociado a los ciclos de sequía que se producen en esta región de la Patagonia cada 18 años (Currie, 1983). En las NVCP la conexión que estas lagunas poseen con el arroyo Moro (que es de carácter variable y torrencial y de origen de deshielo) provoca que el nivel esté principalmente influenciado

por el mismo. El nivel hídrico de las lagunas es un factor importante involucrado en los estados de equilibrio turbio/claro de las lagunas. En este sentido, Blindow et al. (1993) en un estudio de dos lagunas realizado en el sur de Suecia observaron que el nivel hídrico era el factor principal causante de los cambios de estado de equilibrio, por lo que este factor no debe ser ignorado al analizar los regímenes que presentan las lagunas.

Por otro lado, la biomasa de las macrófitas también está condicionada por otras variables ambientales que deben ser consideradas, tales como tipo de sedimento, concentración de nutrientes, dirección e intensidad del viento, tipo de sedimento (Fieldman y Nõges, 2007), así como también la pendiente y profundidad (Duarte y Kalff, 1986). Muchas lagunas profundas de la meseta del Strobel sólo permiten el desarrollo de macrófitas disponiéndose en anillos alrededor de las lagunas, mientras que en las más someras la superficie propensa a ser colonizada es muchísimo mayor, llegando a coberturas del 100% en algunas de ellas. Por lo tanto a la hora de analizar los estados de equilibrio en que se encuentran las lagunas es importante incluir esta limitación intrínseca de algunos sistemas para el desarrollo de la vegetación.

Las lagunas NVSP seleccionadas, al igual que las V no presentan ningún tipo de conexión con arroyos. Con una morfometría más similar a las NVCP, estas lagunas no difirieron significativamente de éstas en cuanto al conjunto de variables físicas y químicas.

Los resultados obtenidos no permiten aceptar la primera hipótesis de este capítulo, relacionada con el efecto de la introducción de peces sobre el incremento en la biomasa fitoplanctónica. Sin embargo el efecto de la introducción de peces sobre el fitoplancton fue demostrado en otros trabajos. Por ejemplo, estudios experimentales realizados por (Blanco, 2010) mostraron que la introducción de peces genera un efecto directo e indirecto sobre las redes tróficas acuáticas, conduciendo a un incremento en el crecimiento algal, aumento de turbidez y nutrientes, en consecuencia esto genera la disminución en la densidad de macrófitas sumergidas y algas epífitas. Para los lagos de la región del Strobel, otros estudios confirmarían un efecto de las truchas. En particular, trabajos recientes enfocados en la estructura de especies y tallas de zooplancton (Lancelotti et al., en prensa) y en la dieta de las truchas (Lancelotti et al., 2015) demuestran el importante efecto de la alimentación de las truchas sobre la abundancia y composición de los diferentes grupos de zooplancton. Sin embargo, nuestros resultados

parecen demostrar cierto desacople entre el zooplancton y el fitoplancton, lo que podría estar influenciado por el nivel hídrico y posiblemente por la marcada estacionalidad del clima en la zona.

En este estudio el efecto más marcado de la introducción de peces se percibió a nivel de la composición de los grupos planctónicos analizados, lo que confirmaría la segunda hipótesis planteada en este capítulo. En este sentido, nuestros resultados serían similares a los observados en estudio experimental en el que se manipuló la concentración de nutrientes y la biomasa de peces para evaluar el impacto sobre las tramas tróficas (Romo et al., 2004); en este estudio se observó que la concentración de nutrientes controlaba la biomasa de fitoplancton y perifiton, mientras que el zooplancton (que estaba sometido a predación por parte de los peces) influenciaba las proporciones relativas de las especies dominantes de fitoplancton. Dentro del tipo de lagunas no vegetadas, en esta tesis se observó una marcada diferencia del grupo algal dominante; en las lagunas sin siembra de peces predominaron las algas verdes mientras que en las lagunas con siembra se detectó una mayor abundancia de cianobacterias. Este resultado concuerda con las observaciones de Reissig et al. (2006) para otros lagos de la meseta nord-patagónica. El incremento en la biomasa de cianobacterias en un cuerpo de agua puede ser consecuencia de cambios en el reciclado de nutrientes ocasionado por las presencia de peces en un cuerpo de agua (Elser, 1999).

En cuanto a la composición del picoplancton autotrófico, las lagunas con siembra de peces fueron las únicas que desarrollaron ensambles que incluían Pcy PC, además de Pcy PE y Peuk, que también fueron encontradas en los otros tipos de lagunas. Las Pcy PC se encuentran adaptadas a ambientes con limitación lumínica dado que este grupo es más eficiente en la absorción de luz roja que es la que prevalece en aguas turbias (Stomp et al., 2007). El mismo patrón fue descrito en una gran cantidad de trabajos (ej. Schiaffino et al., 2013; Izaguirre et al., 2014 y citas allí mencionadas, Liu et al., 2014). Resultaría interesante en el futuro realizar perfiles verticales de la irradiancia para el rango de longitudes de 350 a 750 nm para profundizar en el estudio de la calidad de la luz en estos ambientes y su relación con la comunidad picoautotrófica.

Los resultados obtenidos en este capítulo constituyen una profundización de la caracterización limnológica previa realizada por Lacelotti (2009) para los lagos de la meseta del Strobel. En esta tesis se demuestra que los cuerpos de agua de esta región

presentan un gran dinamismo, el que está asociado a las variaciones intra e interanuales. Las variaciones hídricas repercuten en la estructura de las comunidades microbianas. Los resultados obtenidos también mostraron algunas evidencias del impacto de la introducción de truchas en estos sistemas, resultando necesario profundizar los estudios en los lagos de la región a fin de cubrir un mayor número de muestreos con condiciones hidrológicas contrastantes.

CAPÍTULO 6

Ensamblajes de algas mixotróficas en lagos que presentan diferentes estados tróficos y contenidos de carbono orgánico disuelto (COD)

Introducción

Los protistas mixotróficos son organismos capaces de obtener energía y / o nutrientes por medio tanto de la fotoautotrofia como de la heterotrofia (ej. Jones, 2000). Técnicamente, la actividad heterotrófica puede implicar osmotrofia y / o bacterivoría. Sin embargo, como la mayoría de los taxones fitoplanctónicos tienen la capacidad de absorber aminoácidos y otros metabolitos primarios del medio, no sería conveniente utilizar a la osmotrofia como un rasgo distintivo de la mixotrofia en los protistas (Flynn et al., 2012). Por lo tanto en esta tesis me refiero, como en la mayor parte de la literatura ecológica, a la nutrición fototrófica y nutrición fagotrófica. Los protistas mixotróficos juegan un papel clave en la red trófica planctónica debido a su importante contribución al flujo de carbono y otros nutrientes en los ecosistemas acuáticos (Mitra et al., 2014).

El éxito de los mixótrofos sobre los autótrofos estrictos, como fue demostrado en el capítulo 4, puede variar de acuerdo a las condiciones ambientales del sistema acuático, por ejemplo en función del estado trófico. Adicionalmente, en los lagos húmicos oligotróficos, la luz puede ser también limitante para la fotosíntesis, y por lo tanto la ingestión de presas contribuye a los requerimientos de carbono y / o micronutrientes para la fotosíntesis. En ambientes con mayor estado trófico el fitoplancton no está sometido a estos factores de estrés y por lo tanto las algas pueden desarrollarse a expensas de la fotosíntesis, mientras que la estrategia mixotrófica resultaría desventajosa en estos ambientes menos restrictivos (Raven, 1997). Otra explicación interesante fue propuesta por Wilken et al. (2014) quien mostró que en sistemas oligotróficos el crecimiento foheterotrófico podría ser más conveniente para algunos grupos de algas, es decir donde la luz es principalmente utilizada como fuente de energía y la materia orgánica como fuente de carbono. En términos de economía, esta nueva visión le quita peso a las consideraciones anteriores que involucran los altos costos de mantenimiento de ambos sistemas fisiológicos de nutrición (Raven, 1997), ya que la ingestión de presas y asimilación de C orgánico permite la reducción de la fijación de C en el ciclo de Calvin-Benson y por lo tanto una reducción en el contenido de las estructuras bioquímicas implicadas en la reacción lumínica.

Las algas mixotróficas no pertenecen a un grupo taxonómico ni ecológico en particular. Todos los grupos actuales, al igual que el resto de los eucariotas, habrían sido

originados mediante procesos endosimbiótico primarios, secundarios o terciarios (Keeling, 2004). Particularmente, los mixótrofos expresan el modo fagotrófico ancestral de nutrición. Esta evolución inversa habría ocurrido independientemente a lo largo del tiempo, encontrando diferentes grados de autotrofia y heterotrofia entre los diferentes grupos (Raven, 2009).

En una primera aproximación, Jones (1994) propuso una clasificación de los mixótrofos, disponiéndolos a lo largo del espectro de estrategias nutricionales entre la autotrofia absoluta y heterotrofia absoluta. Posteriormente, en la misma línea diferentes modelos conceptuales fueron publicados basándose en el comportamiento nutricional de estos organismos (ej. Jones, 1997; Stoecker, 1998; Jones, 2000). Al margen de algunas diferencias entre estos enfoques, todos ellos concuerdan en que los diferentes mixótrofos se diferencian en su grado de autotrofia o heterotrofia debido a las limitaciones específicas ambientales: luz, nutrientes, disponibilidad de presas o una combinación de ellas (Bergström et al, 2003). Además, también fueron propuestos algunos modelos matemáticos con el objetivo de dilucidar en qué condiciones tendrían lugar estas especializaciones hacia fotótrofos estrictos y fagótrofos estrictos (Troost et al., 2005; De Castro et al., 2009). Sin embargo, pocos estudios se han enfocado en el análisis de los ensamblajes de mixótrofos a lo largo de gradientes de condiciones ambientales incluyendo diferentes cuerpos de agua.

En lo que respecta a los grupos algales mixotróficos, las crisofitas se ubican con frecuencia en la parte heterótrófica del espectro nutricional. Por ejemplo, las especies de *Ochromonas* llevan a cabo la fotosíntesis, además de la ingestión de presas, cuando las bacterias no son abundantes o no son suficientemente nutritivas para sustentar el crecimiento (Pålsson y Daniel, 2004; Boechat et al., 2007). En otros taxa, tales como *Dinobryon* spp., la disponibilidad de luz presumiblemente promueve la fotosíntesis, mientras que la bacterivoría es un aporte de nutrientes complementario en condiciones ambientales oligotróficas (Caron et al. 1993; Jones y Rees, 1994; Rottberger et al. 2014). Por el contrario, las criptofitas están comúnmente situadas hacia la parte más autótrofa del gradiente. Aunque algunas especies ingieren bacterias, su ganancia de energía es limitada (Tranvik et al., 1989), y la bacterivoría es probablemente una forma de adquirir algunas sustancias de crecimiento esenciales (Urabe et al., 2000). Más aún,

se demostró que las criptofitas pueden utilizar la bacterivoría para sobrevivir bajo condiciones de oscuridad prolongada (Roberts y Laybourn-Parry, 1999). Otros grupos de mixótrofos, a pesar de que no fueron incluidos en estas primeras clasificaciones, pueden ser ubicados en una posición dentro del gradiente en base a datos de la literatura más reciente. Por ejemplo, Unrein et al. (2014), mostraron recientemente el papel clave de las haptofitas como bacterívoros en los ecosistemas marinos, y destacaron que su actividad fagotrófica no se correlaciona con los nutrientes o la luz, por lo que podrían ser ubicadas en este gradiente como algas primariamente heterótrofas. Por otro lado, las Dytiochophyceae resultaron ser un grupo fagotrófico relevante en algunos lagos patagónicos y antárticos oligotróficos (Gerea et al., en prensa). Las Prasinophyceae son un grupo que por mucho tiempo fue considerado como autótrofo, pero recientemente se ha acumulado evidencia de que no sólo muchas especies presentan la habilidad de ingerir presas para suplementar la fotosíntesis para el crecimiento (McKie-Krisberg et al., 2015), sino que en ciertas condiciones podrían potencialmente contribuir en gran medida a la predación global en ambientes marinos del ártico (McKie-Krisberg y Sanders, 2014).

En el capítulo 3 se describió que el éxito de los mixótrofos por sobre los autótrofos decrece a lo largo de un gradiente creciente de estado trófico y COD, pero sin embargo los mixótrofos persistieron en todo el rango de ambientes. Este capítulo de la tesis está enfocado en los diferentes ensambles que ocurren en los diferentes tipos de ambientes según el estado trófico y el COD. Partiendo del supuesto de que la variación en la contribución de la fagotrofia y la heterotrofia a la nutrición celular entre los distintos mixótrofos confiere una aptitud diferencial para desarrollarse en cada ambiente, se espera encontrar diferentes ensambles de mixótrofos desarrollándose a lo largo de un gradiente ambiental. Se plantea las siguientes **hipótesis: 1)** Los mixótrofos primariamente autotróficos dominan ambientes con mayor grado de trofismo, mientras que los mixótrofos primariamente heterotróficos lo hacen en ambientes oligotróficos. **2)** Las tasas de ingestión para cada grupo disminuyen en lagos que presentan mayor estado trófico, ya que las condiciones ambientales para la fotosíntesis mejoran.

Con el fin de probar estas hipótesis se analizó la comunidad de mixótrofos en lagos de dos regiones de la Patagonia Argentina que presentan diferentes condiciones de nutrientes y DOC. Se estudió la bacterivoría de los principales mixótrofos en cada tipo de lago mediante experimentos a corto plazo a través de la utilización de presas (bacterias) marcadas.

Área de estudio

Como fuera descripto en capítulos anteriores, la Patagonia presenta una amplia variedad de lagos con diferente morfometría, propiedades ópticas, materia orgánica disuelta y contenido de nutrientes (ej. Quirós y Drago, 1985; Baigún y Marinone, 1995; Díaz et al., 2000; Pérez et al, 2010 ;. Modenutti et al., 2010). Nuestro estudio se llevó a cabo en las dos zonas seleccionadas de la Patagonia Austral, cuyas características fueron descriptas en capítulos anteriores, y que reflejan claramente la diversidad mencionada: la Meseta de lago Strobel (Santa Cruz) y Tierra del Fuego. Se estudiaron 24 cuerpos de agua en las provincias de Santa Cruz y Tierra del Fuego, cuya posición geográfica se muestra en la figura 6.1.

Entre los 24 cuerpos de agua estudiados se incluyeron ambientes representativos de cinco tipos de lagos: 4 lagos profundos claros (Yehuín, Escondido, Fagnano y Acigami), 2 lagos húmicos (Negra y Victoria), 4 lagunas de castor (Pond a, b, c y d), 5 lagunas claras con vegetación sumergida (S64 S94, Nieve, Justita, Coloradas) y 9 lagunas turbias con alta biomasa fitoplanctónica -de aquí en más “turbios fitopl.”- (Herradura, Temp, 9, 8, Verde, Campamento, Potrerillo Rod 19 y pifíe). En la mayoría de los lagos se tomaron muestras durante tres campañas en Tierra del Fuego (octubre de 2008, enero de 2010 y julio de 2012), y durante dos campañas en la meseta Strobel (noviembre 2011 y febrero 2013).

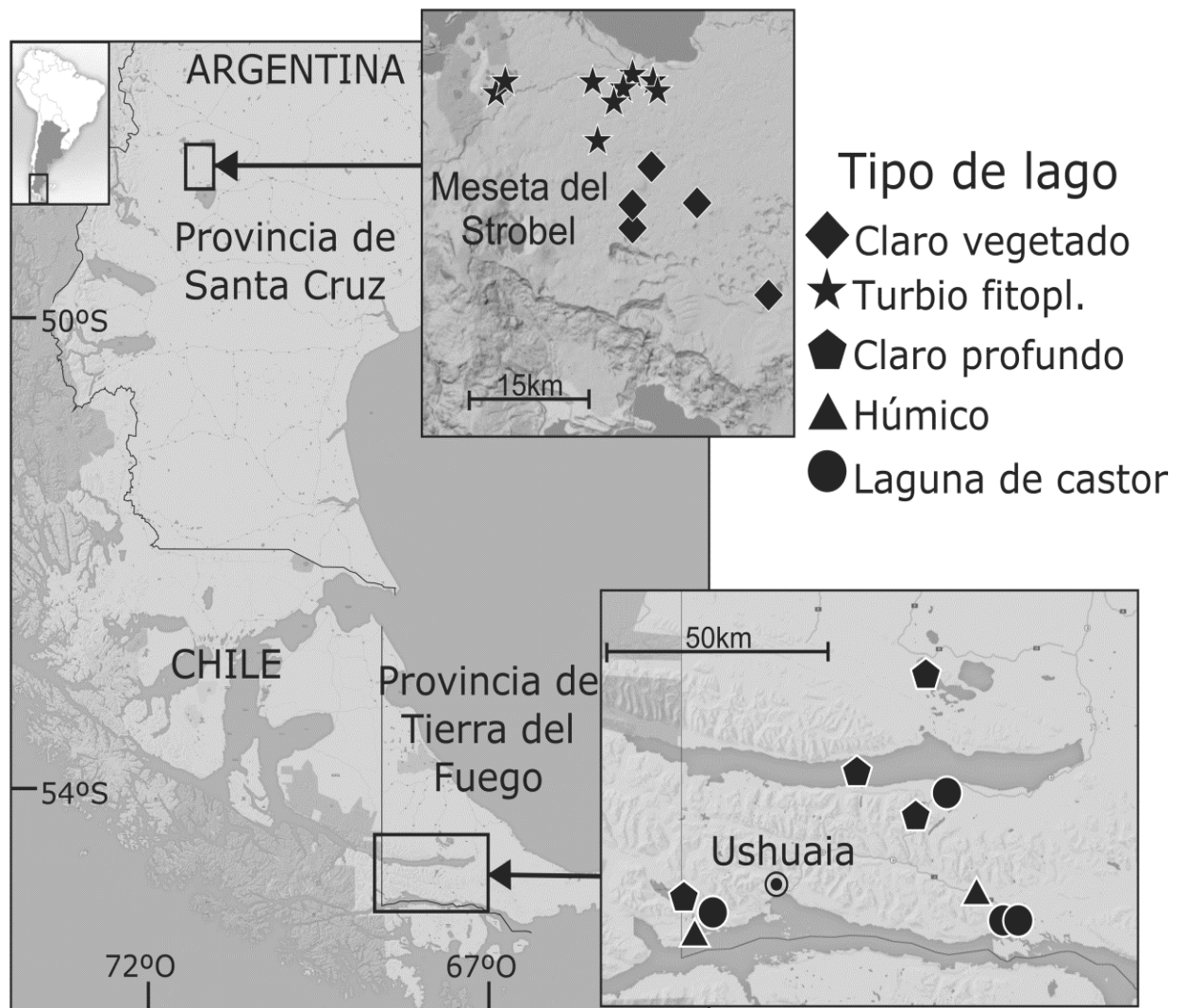


Figura 6.1: Ubicación de los diferentes lagos estudiados clasificados según el tipo de sistema.

Resultados

Agrupamiento de lagos

Los lagos estudiados fueron agrupados en cinco categorías de acuerdo a sus características limnológicas más sobresalientes (Tabla 6.1): lagos claros profundos, lagos húmicos, lagunas de castores, claros vegetados y turbios dominados por fitoplancton (turbios fitopl.). La posición de los lagos en función de la Chl *a* y el COD se muestra en la figura 6.2.

Tabla 6.1: Variables físicas y químicas medidas en cada tipo de lago estudiado. Los lagos de Tierra del Fuego (TF) fueron muestreados en Octubre de 2008, enero de 2010 y julio de 2012. Los lagos de Santa Cruz (SC) fueron muestreados en noviembre de 2011 y febrero de 2013. Para cada grupo se reportan valores medios y los rangos (entre paréntesis): OD, oxígeno disuelto; NID, nitrógeno inorgánicos disuelto; PRS, fósforo reactivo soluble; COD, carbono orgánico disuelto; K_d , coeficiente de extinción vertical PAR.

Tipo	Claros profundos	Húmicos	Lagunas de Castor	Claros Vegetados	Turbios fitopl. fitoplancton
N	4	2	4	5	9
Provincia	TF	TF	TF	SC	SC
Altitud (m.a.s.l.)	63 (20-120)	66 (29-103)	22.7 (11-43)	879.4 (749-930)	890.8 (881-901)
Área (km ²)	177.37 (56.38-645)	0.15 (0.09-0.21)	0.05 (0.001-0.13)	0.43 (0.01-2.03)	0.25 (0.09-0.71)
Temp. (°C)	7	9.2 (4.9-15.9)	9.9 (6.9-14.4)	16.8 (11.3-21)	14.11 (10.3-18)
pH	7.20 (6.04-8)	6.59 (6.01-7.4)	7.41 (6.27-8.67)	8.85 (8.3-9.9)	8.38 (8.1-8.9)
Cond. (µs.cm ⁻¹)	100.4 (69.5-197)	58.9 (34.9-77.1)	365.6 (110.3-1284)	422.9 (78.8-1937)	537.8 (191.6-1227)
OD (mg.l ⁻¹)	11.12 (9.8-11.7)	10.54 (8.9-12.07)	11.31 (7.7-13.6)	11.84 (9.3-19.3)	10.20 (7.8-17.8)
Chl <i>a</i> (µg.l ⁻¹)	0.9 (0.1-3.99)	0.82 (0.1-2.18)	9.19 (0.29-33.53)	4.42 (0.24-11.61)	11.54 (2.42-55.16)
NID (mg.l ⁻¹)	0.05 (0.01-0.14)	0.04 (ND-0.13)	0.04 (0.01-0.08)	0.11 (0.02-0.71)	0.1 (0.04-0.24)
PRS (mg.l ⁻¹)	0.04 (0.01-0.1)	0.04 (ND-0.09)	0.04 (0.01-0.08)	0.41 (0.03-1.28)	0.25 (0.02-0.9)
COD (mg.l ⁻¹)	4.87 (2.1-9.3)	9.32 (6.4-12)	13.84 (6.9-24.8)	30.17 (3.9-84.8)	41.81 (18.9-98.6)
K_d (m ⁻¹)	0.79 (0.40-1.49)	1.59 (0.8-2.82)	2.29 (0.73-3.3)	1.70 (0.56-3.8)	2.37 (0.56-6.77)

Los lagos claros profundos y los húmicos presentaron los valores más bajos de Chl *a*. El primer grupo comprende cuerpos de agua grandes (con un área media de 177km²), caracterizados por una baja conductividad y kd. Los lagos húmicos también presentaron bajas conductividades y valores más bajos de pH. Estos dos grupos difirieron fundamentalmente por la concentración relativamente más alta de COD hallada en los sistemas húmicos, como ya se ha señalado, derivado de la alta densidad de *Sphagnum* sp. que tapiza el fondo y áreas litorales de estos ambientes.

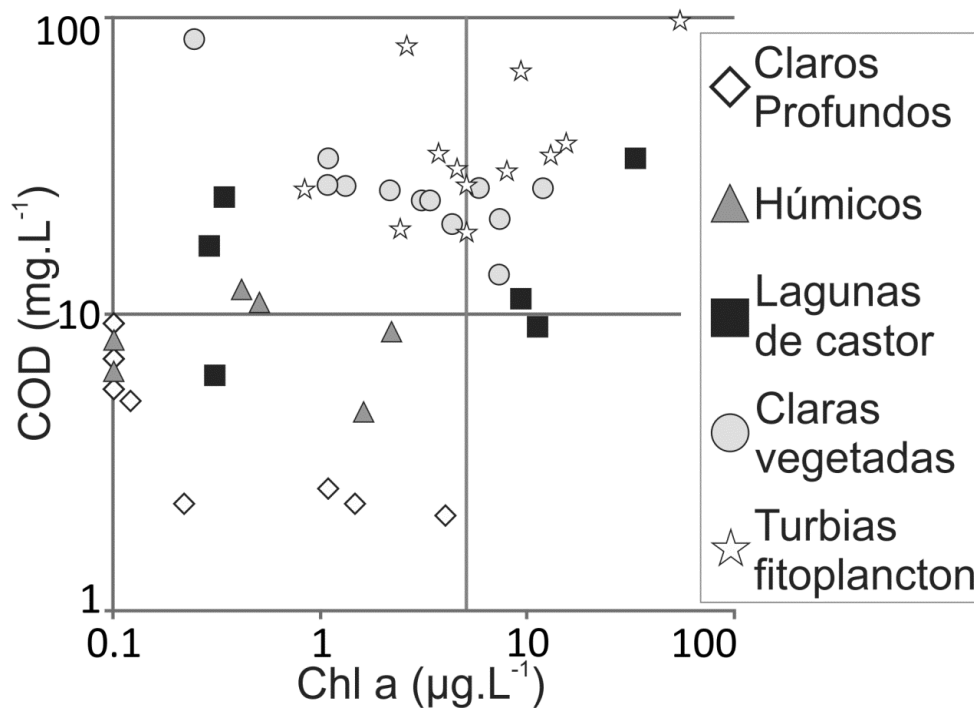


Figura 6.2: Gráfico de dispersión entre Chl *a* (Chlorofila *a*) (eje-X) y COD (Carbono Orgánico Disuelto) (eje-Y) para todos los lagos estudiados.

Las lagunas de castores conforman un grupo heterogéneo de cuerpos de agua con diferente grado de impacto de castores (*Castor canadensis*); son los cuerpos de agua más pequeños del set de datos (media 0,05km²) y presentan una gran influencia de las áreas que los circundan. Consecuentemente, presentan una alta variación en las características químicas y físicas dentro y entre ellos (Chl *a*= 0,29µg.l⁻¹ a 33,53µg.l⁻¹; COD=6,9mg.l⁻¹ a 24,8mg.l⁻¹; kd=0,73m⁻¹ a 3,3m⁻¹).

Los lagos claros vegetados y los turbios fitopl., ambos ubicados en la Meseta del Strobel (Santa Cruz), mostraron características que variaron entre mesotróficas y eutróficas. El primer grupo está conformado por lagos sin peces con diferente cobertura de macrófitas (principalmente *Myriophyllum quitense*), siendo éstos los lagos más prístinos de la zona. Este grupo exhibió un alto contenido de nutrientes (valores medios: NID=0,11mg l⁻¹ y PRS=0,41mg l⁻¹) que no se traducen en una alta concentración de Chl *a* (media 4,42 µg l⁻¹), probablemente debido a la competencia de las macrófitas y la ausencia de peces. Los lagos turbios dominados por fitoplancton, en cambio son eutróficos (valores medios: Chl *a*=11,54µg l⁻¹, PRS=0,25mg l⁻¹, COD=41,81mg l⁻¹), están caracterizados por una escasa cobertura de macrófitas y muchos de ellos presentan introducción de truchas exóticas (*Oncorhynchus mykiss*).

La clasificación de los tipos de lagos basada en las variables de indicadores del estado trófico y el COD fue sustentada por el análisis MANOVA, donde todos los tipos de lagos difirieron significativamente entre ellos (traza de Pillai=1,06; F_{12,114}=5,18; p<0,0001)(tabla 6.2)

Tabla 6.2: Comparación entre los tipos de lagos estudiados dentro del MANOVA utilizando el Test de Hotelling. Los números en las filas conforman los vectores medios para cada tipo de lago. Medias con letras diferentes son significativamente diferentes (p≤0.05). Chl *a*= chlorofila *a*; PRS= fósforo reactivo soluble; COD=Carbono Orgánico Disuelto.

Tipo	ln(Chl <i>a</i>)	ln(PRS)	ln(DOC)	n	Significance
Claros profundos	-1.09	-3.37	1.36	8	A
Húmicos	-0.52	-3.28	2.14	5	B
Lagunas de castors	0.60	-3.38	2.69	6	C
Claros vegetados	1.05	-1.49	3.31	12	D
Turbios fitopl.	1.82	-1.96	3.59	12	E

Ensamblajes de algas mixotróficas

Se identificaron siete taxa de Cryptophyceae (Tabla 6.3). *Cryptomonas* spp. y *Plagioselmis* spp. estuvieron presentes en casi todos los lagos, mientras *Chroomonas* sp. y *Hemiselmis* sp. sólo fueron encontradas en unos pocos lagos y siempre con abundancias bajas. La mayoría de las especies de Chrysophyceae generalmente estuvieron restringidas a ambientes de oligo a mesotróficos; este es el caso de *Dinobryon* spp., *Chrysamoeba* sp. y *Chromulina* spp., que se encontraron en diferentes ambientes con bajo nivel trófico, aunque nunca llegaron a desarrollar altas densidades. Por el contrario, las *Ochromonas* spp. se registraron en todos los tipos de lagos. Dictyochophyceae y Haptophyceae estuvieron representados por unas pocas especies, y ambas clases estuvieron ausentes en los ambientes eutróficos.

Tabla 6.3: Taxa de los flagelados mixotróficos más abundantes y/o frecuentes en los cinco tipos de cuerpo de agua.

	Claros profundos	Húmicos	Lagunas de castor	Vegetados claros	Turbios fitopl.
Chrysophyceae					
<i>Chromulina</i> sp.		X		X	X
<i>Chrysamoeba</i> sp.		X			
<i>Dinobryon cylindricum</i>		X			
<i>Dinobryon divergens</i>	X	X	X		
<i>Dinobryon</i> sp.	X		X		
<i>Ochromonas</i> spp.	X	X	X	X	X
Cryptophyceae					
<i>Chroomonas</i> sp.	X	X		X	X
<i>Cryptomonas marssonii</i>	X	X		X	X
<i>Cryptomonas ovate</i>	X		X	X	X
<i>Cryptomonas</i> sp.	X	X	X		X
<i>Hemiselmis</i> sp.				X	
<i>Plagioselmis lacustris</i>	X	X	X		
<i>Plagioselmis nannoplanctica</i>		X	X	X	X
Dictyochophyceae					
<i>Pseudopedinella</i> sp.	X	X	X	X	
Haptophyceae					
Haptophyceae 1	X	X	X	X	
<i>Chrysochromulina</i> cf. <i>Parva</i>	X	X			

Teniendo en cuenta la abundancia relativa, las crisofitas se registraron en mayor proporción en ambientes con baja Chl *a* y COD, con un claro descenso a lo largo del gradiente (Fig. 6.3). En particular, las *Ochromonas* spp. estuvieron bien representadas en casi todos los tipos de lagos, pero prevalecieron en los lagos oligotróficos, incluso representando a toda la comunidad de mixótrofos, tal como ocurrió en el lago claro profundo Acigami. Los lagos más enriquecidos presentaron menor proporción de *Ochromonas* spp. que los oligotróficos, y en algunos casos representaron menos del 1% de la comunidad de mixótrofos. Otros géneros de crisofitas, tales como *Dinobryon* spp., sólo fueron abundantes en algunos lagos oligo y mesotróficos, mientras que en los sistemas meso-eutróficos este género presentó muy bajas densidades o estuvo completamente ausente. *Pseudopedinella* sp. (Dictyochophyceae) fue un taxon frecuente pero menos representado, y las proporciones más altas de este grupo se encontraron en lagos húmicos; su contribución a la comunidad total de mixótrofos nunca superó el 15%. Con una tendencia opuesta, las criptofitas fueron menos abundantes en los sistemas con menor estado trófico y COD, pero alcanzaron proporciones más elevadas en aquellos sistemas con altas concentraciones de COD (típicamente $>10 \text{ mg l}^{-1}$) y Chl *a*. Dentro de este grupo, *Cryptomonas* spp. desarrollaron abundancias más altas en lagos eutróficos, en algunos lagos turbios con alta biomasa de fitoplancton llegaron a conformar el 70% de la comunidad de mixótrofos. *Plagioselmis* spp. estuvieron presentes en casi todos los lagos, pero mostraron una mayor proporción en ambientes meso y eutróficos. Las especies de *Chroomonas* sólo se encontraron en cantidades considerables en lagos meso y eutróficos, y su contribución máxima fue de 20% en sólo una laguna vegetada.

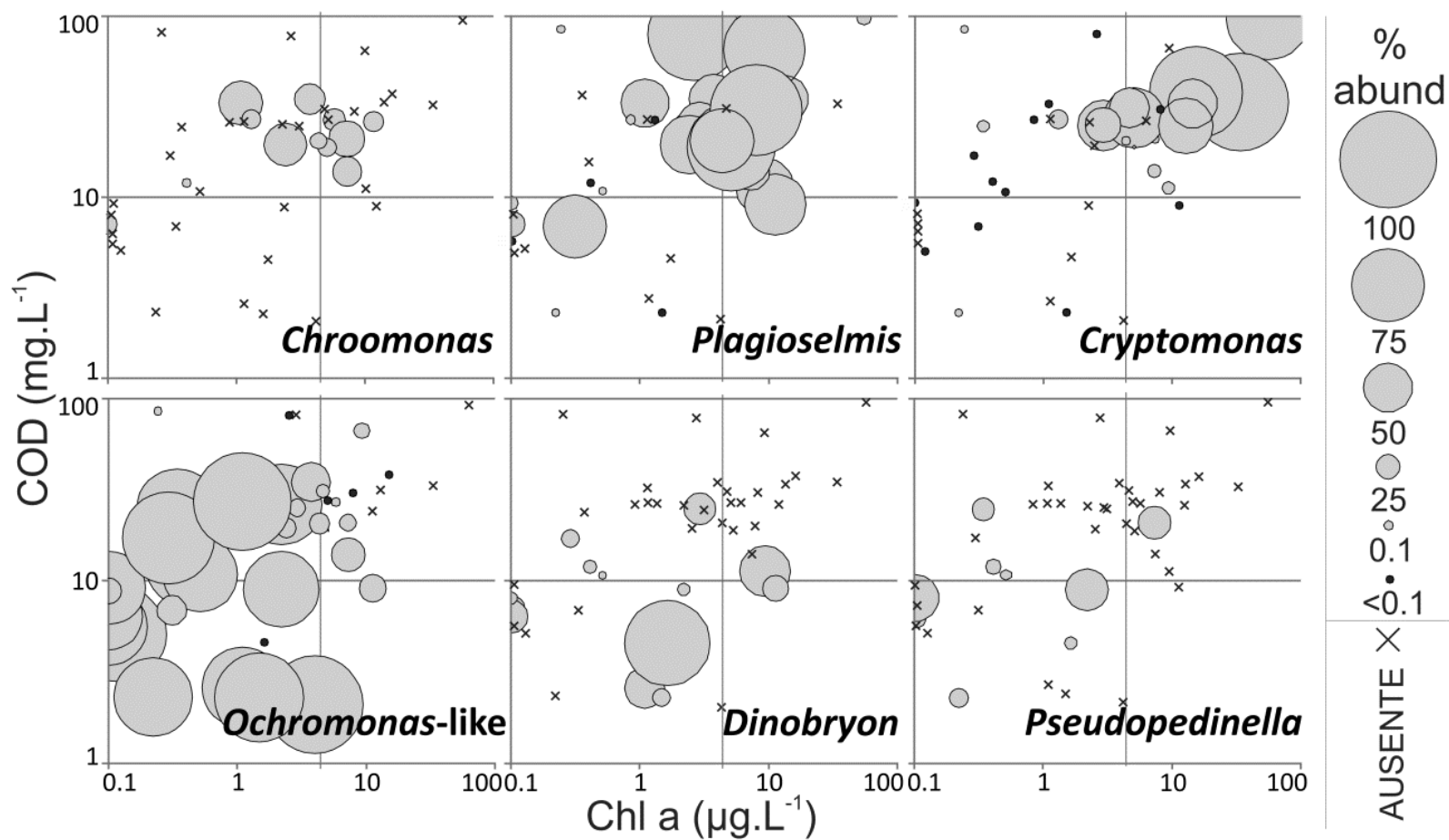


Figura 6.3: Porcentaje de los principales generos de flagelados mixotróficos con respecto al total de flagelados mixotróficos en cada lago, de acuerdo a la Chl *a* (Clorofila *a*) (eje X) y COD (Carbono Orgánico Disuelto) (eje Y).

Comportamiento fagotrófico de las algas mixotróficas

En los lagos en los que se realizaron los estudios de bacterivoría se registraron diferentes conjuntos de flagelados mixotróficos pertenecientes a tres clases de algas (Chrysophyceae, Dictyochophyceae y Cryptophyceae) cuando se llevaron a cabo los experimentos. Sólo *Ochromonas* spp. y *Plagioselmis nannoplanctica* estuvieron presentes en los cuatro cuerpos de agua. *Cryptomonas marssonii* y *Pseudopedinella* sp. se observaron en los lagos oligotróficos húmicos y profundos. Dentro de las Chrysophyceae, *Chrysamoeba* sp. y *Dinobryon cylindricum* solamente se encontraron en el lago Victoria (húmico), mientras que la criptofita *Cryptomonas ovata* estuvo restringida al lago Herradura (turbia dominada por fitoplancton). Todos estos grupos mixotróficos ingirieron presas en los dos lagos oligotróficos (Victoria y Escondido), mostrando en estos ambientes las tasas más altas de ingestión. Particularmente, *Pseudopedinella* sp. y *Cryptomonas marssonii* presentaron las tasas más altas de ingestión. *Pseudopedinella* ingirió 3,89 bact. flag.⁻¹h⁻¹ en el lago Escondido (profundo claro) y *C. marssonii* alcanzó 3,92 bact flag.⁻¹h⁻¹ en Victoria (lago húmico), lo que constituye un valor incluso más alto que el de los flagelados heterotróficos. Las tasas de ingestión más bajas se registraron en los lagos claros vegetados y turbios dominados por fitoplancton; en estos lagos solamente *C. ovata* y *P. nannoplanctica* (ambos de la Clase Cryptophyceae) ingirieron presas a una velocidad medible (Tabla 6.3).

Más de la mitad de las bacterias ingeridas en los lagos oligotróficos y mesotróficos fueron consumidas por las algas mixotróficas, mientras que su impacto se redujo en el lago eutrófico (Figura 6.4).

Tabla 6.3: Valores de los diferentes índices asociados a la predación de los grupos de flagelados mixotróficos en los cuatro cuerpos de agua estudiados. Valores medios \pm desviación standard. TIE, tasa de ingestión específica; IF, impacto de fagotrofia; TC, tasa de clareado.

	Tipo de lago	Biovolumen ($\mu\text{m}^3 \text{ml}^{-1}$)	TIE ($\text{Bact flag}^{-1} \text{h}^{-1}$)	IF ($\text{Bact ml}^{-1} \text{h}^{-1}$)	TC ($\text{nl flag}^{-1} \text{h}^{-1}$)
HNF <5μm					
	<i>Claros prof.</i>	634 \pm 14	1.21 \pm 0.19	639 \pm 96	1.39 \pm 0.18
	<i>Húmicos</i>	3917 \pm 260	0.49 \pm 0.14	1594 \pm 321	0.46 \pm 0.15
	<i>Claros veg.</i>	1651 \pm 112	0.81 \pm 0.07	629 \pm 83	0.66 \pm 0.14
	<i>Turbias- fitop.</i>	3099.53 \pm 265	0.86 \pm 0.07	869 \pm 16	0.35 \pm 0.01
HNF >5μm					
	<i>Claros prof.</i>	5525 \pm 502	1.91 \pm 0.62	183 \pm 61	2.18 \pm 0.60
	<i>Húmicos</i>	5970 \pm 959	2.15 \pm 0.59	226 \pm 89	2.03 \pm 0.60
	<i>Claros veg.</i>	15509 \pm 1805	0.97 \pm 0.32	119 \pm 55	0.78 \pm 0.16
	<i>Turbias- fitop</i>	54060 \pm 14310	3.34	664	1.27
Chrysophyceae					
<i>Chrysamoeba</i> sp.	<i>Húmicos</i>	122332 \pm 2329	1.78 \pm 0.34	647 \pm 132	1.67 \pm 0.31
<i>Dinobryon cylindricum</i>	<i>Húmicos</i>	73945 \pm 5682	2.80 \pm 1.28	148 \pm 60	2.63 \pm 1.18
<i>Ochromonas</i> spp.	<i>Claros prof.</i>	1936 \pm 203	1.39 \pm 0.18	696 \pm 181	1.58 \pm 0.10
	<i>Húmicos</i>	10446 \pm 1690	1.29 \pm 0.05	1398 \pm 241	1.19 \pm 0.07
	<i>Claros veg.</i>	65 \pm 6	ND	ND	ND
	<i>Turbias- fitop</i>	959 \pm 354	ND	ND	ND
Cryptophyceae					
<i>Cryptomonas marssonii</i>	<i>Claros prof.</i>	87814 \pm 10977	2.26 \pm 0.18	84 \pm 15	2.67 \pm 0.18
	<i>Húmicos</i>	34760 \pm 16261	3.92 \pm 0.41	64 \pm 37	3.69 \pm 0.47
	<i>Claros veg.</i>	59730 \pm 7243	ND	ND	ND
<i>Cryptomonas ovate</i>	<i>Turbias- fitop</i>	2354975 \pm 380016	1.27 \pm 0.39	862 \pm 152	0.54 \pm 0.11
<i>Plagioselmis nannoplanctica</i>	<i>Claros prof.</i>	5113 \pm 432	1.58 \pm 1.17	158 \pm 105	1.76 \pm 1.22
	<i>Húmicos</i>	14715 \pm 1517	2.62 \pm 0.12	500 \pm 90	2.50 \pm 0.16
	<i>Claros veg.</i>	44151 \pm 9931	1.21 \pm 0.29	1137 \pm 401	0.99 \pm 0.29
	<i>Turbias- fitop</i>	4666 \pm 969	1.02 \pm 0.06	105 \pm 3	0.42 \pm 0.02
Dictyochophyceae					
<i>Pseudopedinella</i> sp.	<i>Deep clear</i>	2288 \pm 366	3.89 \pm 0.31	250 \pm 64	4.39 \pm 0.14
	<i>Húmicos</i>	2576 \pm 1072	3.07 \pm 0.48	121 \pm 58	2.88 \pm 0.38

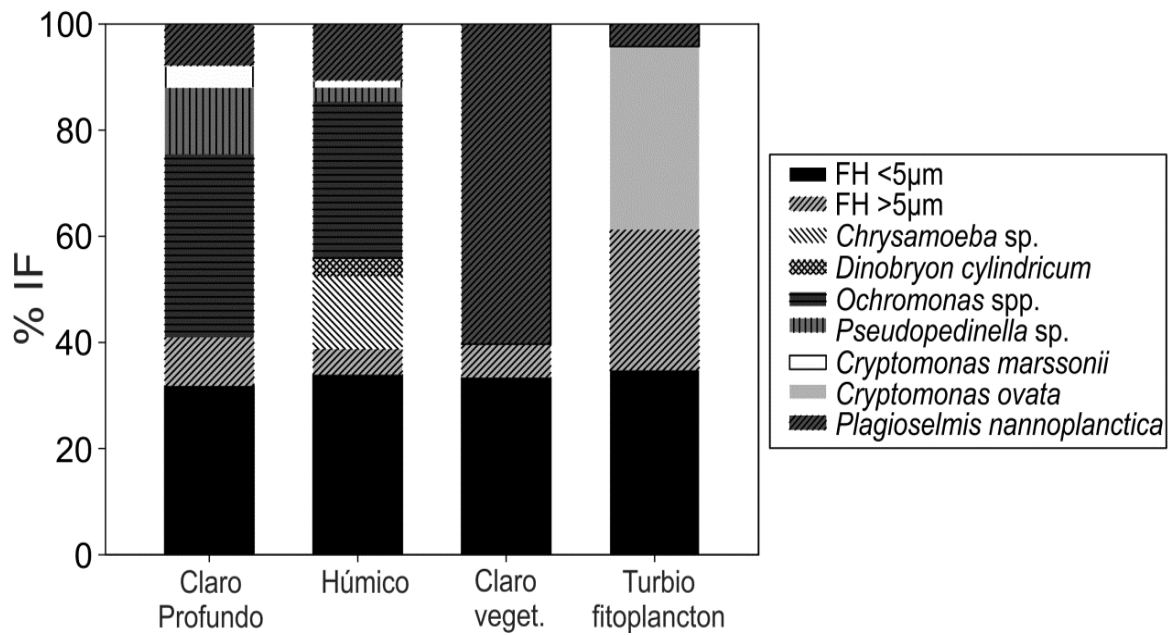


Figura 6.4: Porcentaje de la contribución del impacto de fagotrofia (IF) sobre la comunidad de bacteriana de los grupos de flagelados mixotróficos en los cuatro tipos de lagos estudiados.

Entre los mixótrofos, las crisofitas ejercieron un alto impacto sólo en los lagos oligotróficos (profundo claro y húmico). En ambos sistemas *Ochromonas* spp. mostraron el mayor impacto sobre la comunidad bacteriana (en promedio 53% del impacto total entre los mixótrofos). En el lago húmico otras dos especies también contribuyeron sustancialmente: *Dinobryon cylindricum* y *Chrysamoeba* sp., que representaron el 5 y el 22% del impacto de pastoreo dentro de los mixótrofos en este lago. El único representante de Dictyochophyceae, *Pseudopedinella* sp. tuvo un impacto mayor en el lago profundo claro que en el lago húmico (21 y 4%, respectivamente). Con una tendencia opuesta, las criptofitas fueron las principales algas que predaron sobre las bacterias en el lago claro vegetado y el turbio dominado por fitoplancton. *Plagioselmis nannoplanctica* fue el único mixótrofo que ingirió presas a una velocidad medible en el lago claro con vegetación, alcanzando el impacto de predación más alto entre los fagótrofos en este lago. *Cryptomonas ovata* en cambio, ejerció el mayor impacto en el lago turbio dominado por fitoplancton. Es de destacar que a pesar de que *Cryptomonas marssonii* mostró mayores tasas de ingestión, no contribuyó en gran medida al impacto de pastoreo debido a sus bajas abundancias en los sistemas oligotróficos.

Discusión

El ordenamiento bidimensional de acuerdo a los gradientes de autotrofia y alotrofia propuestos por Rhode (1969) y retomado por Williamson et al. (1999), describió exitosamente la heterogeneidad de los ambientes acuáticos abarcados en este capítulo. En particular, nuestros resultados evidenciaron una marcada correspondencia entre las condiciones tróficas de los lagos (en relación a la Chl *a* y COD) y los ensamblajes de protistas mixotróficos que allí se desarrollan.

A partir de la clasificación de los mixótrofos a lo largo del gradiente nutricional propuesto por Jones (1994), emerge la idea de que cada uno de los grupos estarían mejor preparados para desarrollarse en diferentes ambientes, principalmente bajo condiciones contrastantes de luz, contenido de DOC, nutrientes inorgánicos y densidades de presas. Los resultados de esta tesis, basados en datos de campo obtenidos en numerosos lagos, son consistentes con este modelo. Encontramos que los ensamblajes de mixótrofos difirieron en los lagos que presentaban diferentes características tróficas y de DOC. Para todas las especies de crisofitas la proporción de su abundancia con respecto al total de flagelados mixotróficos disminuyó hacia los niveles mayores de trofismo, mientras que las criptofitas presentaron la tendencia opuesta. A pesar de sus relativamente bajas abundancias, la especie perteneciente a Dictyochophyceae (particularmente Pedinellales) también disminuyó hacia el extremo más eutrófico. El modelo matemático desarrollado por Crane y Grove (2010) apoya estos patrones ya que predice que los mixótrofos son favorecidos por la limitación de nutrientes, logrando persistir en ambientes con bajo suministro de P, pero sólo aquellos con una estrategia que es principalmente autótrofa y secundariamente heterótrofa permanecen en ambientes con alto contenido de nutrientes y luz.

La fagotrofia fue reconocida como un rasgo funcional relevante en la ecología del fitoplancton de agua dulce (ej. Weithhoff, 2003). Las clasificaciones funcionales del fitoplancton, en particular la más frecuentemente usada de Reynolds et al. (2002), y actualizada por Padišák et al. (2009), proporcionan un buen escenario para entender los ensamblajes de algas mixotróficas que se encuentran en los diferentes tipos de lagos estudiados. Entre las criptofitas podemos mencionar representantes del codón "X2" (*Plagioselmis lacustris*) e "Y" (*Cryptomonas* spp.). "X2" está compuesto por pequeños

nanoplancteres (en su mayoría unicelulares con biovolúmenes $<10^3 \mu\text{m}^3$), frecuentes en ambientes meso a eutróficos, tales como los lagos claros con vegetación seleccionados en nuestro estudio; el codón "Y" incluye flagelados nanoplanctónicos más grandes (biovolumen entre 10^3 - $10^4 \mu\text{m}^3$) que se desarrollan en lagos pequeños y enriquecidos, tales como los lagos turbios dominados por fitoplancton seleccionados. En lagos finlandeses Lepistö y Holopainen (2003) observaron una tendencia similar, donde la variación en el tamaño celular y abundancia de especies de Cryptophyceae reflejaba el estado trófico de los lagos. Entre las crisofitas, las *Ochromonas* se encontraron en abundancia relativamente altas en lagos de oligo a mesotróficos, y de acuerdo con Reynolds et al. (2002) éstas pueden ser incluidas en los grupos X3 y X2 (pequeños nanopláncteres de lagos oligotróficos y meso- eutróficos, respectivamente). Las dificultades en la taxonomía de este género, debido a su pequeño tamaño y sin una morfología distintiva bajo microscopio óptico, probablemente hacen que perdamos la información de las tolerancias ambientales específicas. *Dinobryon* fue otra crisofita abundante en lagos húmicos y lagunas de castor de Tierra del Fuego. En congruencia con su clasificación en el grupo "E", estas algas se desarrollan en lagos de oligo a mesotróficos y son sensibles al enriquecimiento de nutrientes, lo que concuerda con la ausencia de este género en los lagos de meso a eutróficos de la meseta del Strobel. Por otro lado, la presencia de especies de *Dinobryon* en aguas ligeramente ácidas fue reportada por Kristiansen (2005), por lo tanto las características ambientales de los lagos húmicos y lagunas de castor de Tierra del Fuego, donde hay musgos en las zonas litorales, representan ambientes propicios para ellas.

Aunque diferentes grupos de mixótrofos se desarrollaron en ambientes con diferentes estados tróficos, todos ellos alcanzaron mayor TIE en lagos oligotróficos, siendo más alta en el sistema húmico. Este resultado está probablemente relacionado con las características ecológicas de los lagos oligotróficos, donde el bajo contenido de nutrientes limita tanto la producción primaria como la bacteriana, y por lo tanto la estrategia de "comerse a su competidor" llevada a cabo por los mixótrofos sobre las bacterias heterótrofas (independientemente del tipo de mixotrofismo) puede resultar más exitosa (Thingstad et al., 1996). En particular, tal como se esperaba, en el lago húmico se observaron las TIE más altas, ya que las condiciones restrictivas de luz debido a la alta concentración de ácidos húmicos alóctonos disueltos, sumadas a las

condiciones oligotróficas favorecen la nutrición heterótrofa. Aunque el número de experimentos realizados no permite comparaciones estadísticas entre ellos, los resultados obtenidos muestran tendencias claras; para sacar conclusiones más sólidas deberían desarrollarse más experimentos que abarcaran un mayor número de lagos.

Las TIE de las crisofitas estimadas en esta tesis están en el rango de los resultados obtenidos en experimentos pioneros realizados en los lagos de la Tierra del Fuego (Saad, 2011), así como en otros sistemas oligotróficos del Hemisferio Norte (ej. Isaksson et al., 1999; Hitchman y Jones, 2000; Medina-Sánchez et al., 2004). En el caso de las criptofitas, a pesar de su menor abundancia en los sistemas oligotróficos, sus altas tasas de ingestión pueden interpretarse como una forma de subsidiar los nutrientes necesarios para la fotosíntesis, tal como se informó en otros estudios (ej. Urabe et al., 2000; Izaguirre et al. 2012; Unrein et al., 2014). Las criptofitas también pueden desarrollar bacterivoría bajo un contexto ambiental diferente, como una respuesta a sobrevivir durante limitación de luz en la Antártida (ej. Thurman et al., 2012). Al parecer, si bien este grupo generalmente es capaz de desarrollar altas densidades en ambientes enriquecidos en nutrientes a expensas de la autotrofia, también presenta la plasticidad para crecer (pero con abundancias inferiores) en ambientes más restrictivos, combinando autotrofia con bacterivoría; no obstante, se desconoce si este comportamiento es dependiente de la especie.

Se presume que todos los grupos de algas mixotróficas analizados en este estudio se originaron a partir de un proceso de endosimbiosis secundaria sobre algas rojas (Keeling, 2004). El modelo de la evolución inversa que puede haber ocurrido entre las algas mixotróficas propuesto de Castro et al. (2009), puede ser adecuado para explicar la distribución de los diferentes algas mixotróficas en los lagos estudiados. La gran abundancia de mixótrofos "más heterótrofos" en ambientes oligotróficos y "más autótrofos" en ambientes eutróficos, podría haberse originado por la reducción obligada de la biomasa celular como una estrategia para la especialización a la depredación sobre pequeñas bacterias en sistemas oligotróficos. Otra pregunta que surge es por qué ambientes oligotróficos parecen permitir el desarrollo de las pequeñas densidades de mixótrofos "más autótrofos", mientras que los ambientes eutróficos parecen ser más hostiles para los más heterótrofos. Una posible respuesta radica en el costo metabólico

necesario para el mantenimiento de ambos sistemas citológicos propuestas por Raven (1997): para las algas "más heterotróficas" resultaría más caro desarrollar un aparato fotosintético más grande (hasta 50% de la biomasa de la célula) que para las algas más autótrofas desarrollar un aparato de fagocitosis mejor desarrollada (hasta 10% de la biomasa de la célula). Por lo tanto, se plantea la hipótesis de que segundo grupo sería más plástico para modificar su comportamiento trófico bajo diferentes condiciones ambientales. Esto puede explicar por qué en ambientes oligotróficos ambos grupos de algas con un bacterivoría activa pueden ser encontrados, mientras que los grupos más heterótrofos están peor representados en los ambientes eutróficos.

Los experimentos realizados proporcionaron información relevante acerca de la importancia relativa de la nutrición heterótrofa de los protistas analizados. No obstante, sería enriquecedor complementar los datos obtenidos con cuantificación empírica de la fotosíntesis en diferentes mixótrofos. Sin embargo, esto es muy complejo de llevar a cabo en las comunidades naturales, limitándose la posibilidad de identificar la causa primaria de activación de la fagocitosis (si adquisición de nutrientes o de carbono es más importante).

Este estudio demostró la importancia relativa de un gran espectro de protistas mixotróficos desarrollándose en un considerable número de lagos naturales con características ambientales contrastantes. Se evidenció que la estructura de los ensamblajes mixotróficos está fuertemente influenciada por las condiciones de Chl *a* y DOC de los lagos, apoyando así las hipótesis planteadas en la investigación.

CAPÍTULO 7

Resumen y Conclusiones Generales

La presente Tesis Doctoral se centró en el estudio a diferentes escalas (latitudinal, regional y local) de las comunidades planctónicas microbianas de lagos de la Patagonia Austral. En una primera instancia se estudió un conjunto de lagos ubicados a lo largo de un gradiente latitudinal, y se analizó la influencia de los factores locales y geográficos sobre la estructura de las comunidades. En una segunda etapa se seleccionaron dos zonas particulares de esta región (Meseta del Strobel en Santa Cruz y Tierra del Fuego), en la cual se estudiaron lagos con características contrastantes. Para los lagos de estas dos zonas las investigaciones desarrolladas en esta tesis constituyen la primera caracterización de sus comunidades planctónicas microbianas, analizándose su relación con los principales factores ambientales en distintos tipos de lagos. Los resultados obtenidos aportan información valiosa sobre la biodiversidad y estructura del plancton de los lagos de estas regiones, y contribuyen al conocimiento de la interacción entre los compartimentos microbianos de las tramas tróficas acuáticas. Además, se profundiza en el estudio de la diversidad y ecología trófica de las algas mixotróficas, organismos que conforman una comunidad algal cuyo rol ecológico fue ignorado durante mucho tiempo y que en ciertos ambientes desempeñan un rol importante en el flujo de la materia y energía.

Las técnicas complementarias utilizadas para abarcar el estudio de las diferentes fracciones de tamaño del plancton microbiano, así como también la realización de experimentos de fagotrofia, permitieron abordar exitosamente los objetivos planteados en esta tesis.

Conclusiones principales

- Las tres aproximaciones utilizadas para el estudio de la biodiversidad fitoplanctónica (diversidad específica, de grupos funcionales y molecular) a lo largo de un gradiente latitudinal de 2150 km, desde Patagonia austral hasta la Antártida marítima, evidenciaron que tanto factores geográficos (principalmente la latitud) como ambientales (principalmente los relacionados con el estado trófico) describieron la diversidad del fitoplancton a gran escala. Entre estos, los factores ambientales fueron los que tuvieron un mayor peso.
- El éxito del fitoplancton mixotrófico por sobre el del fitoplancton autotrófico aumentó a lo largo de un gradiente decreciente de estado trófico desde ambientes eutróficos hasta

oligotróficos. Este patrón observado a escala latitudinal también se corroboró para un set de lagos muy disímiles y próximos entre sí, como son los cuerpos de agua en Tierra del Fuego.

- La composición de especies y grupos funcionales del fitoplancton difirió en los diferentes tipos de lagos de Tierra del Fuego, donde los grupos dominantes se relacionaron estrechamente con las características morfométricas, físicas y químicas de los cuerpos de agua. En los lagos húmicos y los grandes lagos oligotróficos el fitoplancton estuvo compuesto principalmente por Chrysophyceae (grupos funcionales fitoplanctónicos X3, E), con *Ochromonas* spp. como uno de los taxones dominantes. Bacillariophyceae (grupos MP, P), Chlorophyceae y Cryptophyceae (X1, X2, F) también fueron muy abundantes, sobre todo en las lagunas esteparias y lagunas de castor.

- La abundancia y composición del picoplancton heterotrófico también difirió entre los distintos tipos de lagos estudiados en Tierra del Fuego. Las Alphaproteobacteria presentaron las mayores abundancias en los lagos húmicos, mientras que las Betaproteobacteria dominaron los lagos claros oligotróficos. El tercer grupo bacteriano dominante fue Actinobacteria, observado en mayor proporción en las lagunas de castor.

- En cuanto al picoplancton autotrófico las abundancias más bajas se encontraron en los lagos húmicos y claros oligotróficos, con un aumento hacia los lagos con mayor estado trófico. Entre las picocianobacterias, las ricas en ficoeritrina fueron más abundantes en los lagos oligotróficos claros, mientras que las picocianobacterias ricas en ficocianina prevalecieron en uno de los lagos húmicos (Laguna Negra) y en la laguna de estepa San Luis.

- Las lagunas de la meseta del Strobel presentaron variaciones hídricas marcadas entre las campañas de muestreo. Aquellas que no son alimentadas por cursos de agua mostraron una disminución en su nivel (percibido fundamentalmente en las lagunas vegetadas) y las que presentan un régimen influenciado por arroyos registraron un aumento en el nivel hídrico en 2013 (estas fundamentalmente fueron las lagunas con peces).

- En la meseta del Strobel los lagos turbios fueron los más disímiles entre los tipos de lagos estudiados de esta región, presentando una elevada conductividad, carbono

orgánico disuelto y turbidez. Las comunidades autotróficas (fito y picoplancton) exhibieron abundancias comparativamente más altas, mientras que las densidades de plancton heterotrófico (bacterias heterótrofas, ciliados y nanoflagelados), presentaron valores más bajos que el resto de las lagunas.

- Los sistemas vegetados y no vegetados (con y sin introducción de peces), si bien todos de características meso a eutróficas, las vegetadas presentaron mayores concentraciones de nutrientes disueltos y un mayor penetración de la luz.

- Las lagunas con peces difirieron del resto fundamentalmente en la composición de los grupos planctónicos microbianos, con mayores densidades de cianobacterias y dominancia de picocianobacterias ricas en ficocianina. Debido a la variabilidad ambiental e interanual, no se verificó para estas lagunas un mayor estado trófico, tal como se había postulado.

- A lo largo del gradiente de clorofila a y carbono orgánico disuelto conformado con los lagos de las zonas estudiadas, se observaron diferencias en los ensambles de mixótrofos: aquellos primariamente autotróficos (ej. criptofitas) dominaron ambientes con elevado estado trófico mientras que los mixótrofos primariamente heterotróficos (ej. crisofitas) prevalecieron en lagos oligotróficos.

- La aproximación en grupos funcionales del fitoplancton proporcionó un buen escenario para describir el desarrollo de los distintos tipos de algas mixotróficas en los lagos estudiados. Aunque todos los grupos de mixótrofos se desarrollaron en ambientes con diferentes estados tróficos, alcanzaron mayores tasas de ingestión específicas en lagos oligotróficos.

Bibliografía general

- Allende, L., Tell, G., Zagarese, H., Torremorell, A., Pérez, G., Bustingorry, J., Escaray R., Izaguirre, I. (2009) Phytoplankton and primary production in clear-vegetated, inorganic-turbid, inorganic-turbid, and algal-turbid shallow lakes from the Pampa plain (Argentina). *Hydrobiologia* 624, 45–60.
- Ambuel, B., Temple, S.A. (1983) Area-dependent changes in the bird communities and vegetation of southern Wisconsin forest. *Ecology* 64, 1057-1068.
- Anderson, C.B., Pastur, G.M., Lencinas, M.V., Wallem, P.K., Moorman, M.C., Rosemond, A.D. (2009) Do introduced North American beavers *Castor canadensis* engineer differently in southern South America? An overview with implications for restoration. *Mammal Review*, 39(1), 33–52.
- Baas-Becking, L.G.M., (1934) *Geobiologie, of Inleiding Tot de Milieukunde: Met Literatuurlijst en Ind.* Van Stockum.
- Baigún, C., Marinone, M.C. (1995) Cold-temperate lakes of South America: do they fit northern hemisphere models?. *Archiv für Hydrobiologie*, 135(1), 23–51.
- Balseiro, E.G., Queimaliños, C.P., Modenutti, B.E. (2004) Grazing impact on autotrophic picoplankton in two south andean lakes (Patagonia, Argentina) with different light:nutrient ratios. *Revista Chilena Historia Natural*. 77, 73–85.
- Bastidas Navarro, M.A., Díaz Villanueva, M. (2004) Distribución espacial de las diatomeas en el fitoplancton de un lago somero andino patagónico. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 39(1-2), 33-40.
- Beisner, B.E., Peres-Neto, P.R., Lindstrom, E.S., Barnett, A., Longhi, M.L. (2006) The role of environmental and spatial processes in structuring lake communities from bacteria to fish. *Ecology* 87, 2985-2991.
- Bell, T., Kalff, J. (2001) The contribution of picophytoplankton in marine and freshwater systems of different trophic status and depth. *Limnology and Oceanography* 46, 1243–1248.
- Bergström A.-K., Jansson M., Drakare S. y Blomqvist P. (2003) Occurrence of mixotrophic flagellates in relation to bacterioplankton production, light regime and availability of inorganic nutrients in unproductive lakes with differing humic contents. *Freshwater Biology*, 48, 868–877.
- Bird, D.F., Kalff, J. (1984) Empirical relationship between bacterial abundance and chlorophyll concentration in fresh and marine waters. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 41, 1015-1023.
- Bird, D.F., Kalff, J. (1989) Phagotrophic sustenance of a metalimnetic phytoplankton peak. *Limnology and Oceanography* 34, 155-162.
- Blanco S., Fernández-Aláez M., Bécares E. (2008) Efficiency of top-down control depends on nutrient concentration in a Mediterranean shallow lake: A mesocosm study. *Marine and Freshwater Research* 59, 922-930.
- Blanco, S., 2010. The role of fish communities in the eutrophication of shallow lakes. pp. 41-66 In Webber C. *Eutrophication: Ecological Effects, Sources, Prevention and Reversal*.

- Blindow, I., Andersson, G., Hargeby, A., Johansson, F. (1993) Long-term patterns of alternative stable states in two shallow eutrophic lakes. *Freshwater Biology*, 30, 159–167.
- Boëchat I.G., Wetthoff G., Krüger A., Gücker B. y Adrian R. (2007) A biochemical explanation for the success of mixotrophy in the flagellate *Ochromonas* sp. *Limnology and Oceanography*, 52(4), 1624–1632.
- Borcard, D., Legendre, P., Drapeau, P. (1992) Partialling out the spatial component of ecological variation. *Ecology* 73, 1045-1055.
- Borge, O. (1906) Süßwasser-Chlorophyceen von Feuerland und Isla Desolación. *Bot. Stud. F. R. Kjellmann, Uppsala* 21–34.
- Cabrera, A.L. (1971) Fitogeografía de la República Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*. 14, 1–2.
- Callieri, C. (2008) Picophytoplankton in freshwater ecosystems: the importance of small-sized phototrophs. *Freshwater Review* 1, 1–28.
- Callieri, C., Modenutti, B., Queimaliños, C., Bertoni, R., Balseiro, E. (2007) Production and biomass of picophyto- plankton and larger autotrophs in Andean ultraoligotrophic lakes: differences in light harvesting efficiency in deep layers. *Aquatic Ecology* 41, 511–523.
- Carpenter S.R., Kitchell J.F., Hodgson J.R. (1985) Cascading trophic interaction and lake ecosystem productivity. *BioScience* (35), 635-639.
- Carpenter, S.R., Cole, J.J., Kitchell, J.F. (1998) Impact of dissolved organic carbon, phosphorus, and grazing on phytoplankton biomass and production in experimental lakes. *Limnology and Oceanography* 43, 73–80.
- Coesel, P.F., Krienitz, L. (2008) Diversity and geographic distribution of desmids and other coccoid green algae. *Biodiversity and Conservation* 17, 381-392.
- Cole, J.J., Findlay, S., Pace, M.L. (1988) Bacterial production in fresh and saltwater ecosystems: a cross-system overview. *Marine Ecology Progress Series*, 43, 1-10.
- Collantes, M., Faggi, A.M. (1999) Los humedales del sur de Sudamérica. In Malvárez A. I. (eds), *Tópicos sobre humedales subtropicales y templados de Sudamérica*. UNESCO, Montevideo.
- Conzonno, V.H., Ulibarrena, J. (2010) Hydrochemistry of Lakes of the Patagonian Province of Tierra del Fuego (Argentina). *Environmental Earth Sciences*, 59, 1431–1436.
- Craig, S.R. (1987) The distribution and contribution of picoplankton to deep photosynthetic layers in some meromictic lakes. *Acta Académica Aboensis*, 47, 55–81.
- Crane, K.W., Grover, J.P. (2010) Coexistence of mixotrophs, autotrophs, and heterotrophs in planktonic microbial communities. *Journal of theoretical Biology* 262, 517–27.
- Crooks, J.A. (2002) Characterizing ecosystem-level consequences of biological invasions: the role of ecosystem engineers. *Oikos* 97, 153–166.

- Currie R.G. (1983) Detection of 18.6 year nodal induced drought in the Patagonian Andes. *Geophysical Research Letters* 10(11), 1089–1092.
- Darling, K.F., Kucera, M., Pudsey, C.J., Wade, C.M. (2004) Molecular evidence links cryptic diversification in polar planktonic protists to Quaternary climate dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101, 7657-7662.
- De Castro F., Gaedke U., Boenigk J. (2009) Reverse evolution: driving forces behind the loss of acquired photosynthetic traits. *PloS One* 4(12), e8465.
- del Giorgio, P.A., Gasol, J.M. (1995) Biomass distribution in fresh- water plankton communities. *American Naturalist* 146, 135–152.
- del Giorgio, P.A., Peters, R.H. (1993) The influence of DOC on the bacteria-chlorophyll relationship in lakes. *Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie* 25, 359–362.
- del Giorgio, P.A., Cole, J.J., Caraco, N.F., Peters, R.H. (1999) Linking planktonic biomass and metabolism to net gas fluxes in northern temperate lakes. *Ecology* 80, 1422-1431.
- Díaz M.M. (1994) Fitoplancton de lagos andino-patagónicos, su relación con factores abióticos. Tesis Doctoral, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires.
- Díaz M., Pedrozo F. y Baccala N. (2000) Summer classification of southern hemisphere temperate lakes (Patagonia, Argentina). *Lakes and Reservoirs: Research and Management*, 5, 213–229.
- Dolan, J. R., 2005. Biogeography of aquatic microbes. *Aquatic Microbial Ecology* 41, 39-48.
- Duarte, C.M., Kalff, J. (1986) Littoral slope as a predictor of the maximum biomass of submerged macrophyte communities. *Limnology and Oceanography* 31(5), 1072–1080.
- Elser, J.J. (1999) The pathway to noxious cyanobacteria blooms in lakes: The food web as the final turn. *Freshwater Biology* 42(3), 537–543.
- Epstein S., López-García, P. (2008) “Missing“ protists: a molecular prospective. *Biodiversity and Conservation* 17, 261-276.
- Erwin, K.L. (2009) Wetlands and global climate change: The role of wetland restoration in a changing world. *Wetlands Ecology and Management* 17(1), 71–84.
- Feldmann, T., Nöges, P., (2007) Factors controlling macrophyte distribution in large shallow Lake Vörtsjärv. *Aquatic Botany* 87, 15–21.
- Fenchel, T., Esteban, G.F., Finlay, B.J. (1997) Local vs global diversity of microorganisms: cryptic diversity of ciliated protozoa. *Oikos* 80, 220–225.
- Fenchel, T.O.M., Finlay, B.J. (2004) The ubiquity of small species: patterns of local and global diversity. *Bioscience* 54, 777-784.
- Finlay, B.J., Corliss, J.O., Esteban, G., Fenchel T. (1996) Biodiversity at the microbial level: the number of free-living ciliates in the biosphere. *The Quarterly Review of Biology* 71, 221–237.

- Finlay, B.J. (1998) The global diversity of protozoa and other small species. *International Journal of Parasitology* 28, 29-48.
- Finlay, B. J., 2002. Global dispersal of free-living microbial eukaryote species. *Science* 296, 1061-1063.
- Flynn, K.J., Stoecker, D.K., Mitra, A., Raven, J.A., Glibert, P.M., Hansen, P.J., Granéli, E., Burkholder, J.M. (2012) Misuse of the phytoplankton-zooplankton dichotomy: the need to assign organisms as mixotrophs within plankton functional types. *Journal of Plankton Research* 35(1), 3–11.
- Foissner, W. (1999) Protist diversity: estimates of the near-imponderable. *Protistology* 150, 363-368.
- Foissner, W. (2004) Ubiquity and cosmopolitanism of protists questioned. *SILnews* 43, 6-7.
- Foissner, W., (2006) Biogeography and dispersal of micro-organisms: a review emphasizing protists. *Acta Protozoologica* 45, 111-136.
- Foissner, W., (2008) Protist diversity and distribution: some basic considerations. *Biodiversity and Conservation* 17, 235-242.
- Frenguelli, J. (1924) Diatomeas de Tierra del Fuego. *Anales de la Sociedad Científica Argentina* 96, 225–511 263; 97, 87–118, 231–266; 98, 5–63.
- Fu, Y., O’Kelly, C., Sieracki, M., Distel, D. L. Protistan Grazing Analysis by Flow Cytometry Using Prey Labeled by In Vivo Expression of Fluorescent Proteins. *Applied and environmental microbiology* 69, 6848–6855.
- Futuyma, D.J. (1998) *Evolutionary biology*. Sinauer Associates, Massachusetts.
- Gasol, J.M., Duarte, C.M. (2000) Comparative analyses in aquatic microbial ecology: How far do they go? *FEMS Microbiol Ecol* 31, 99–106.
- Gaston, K. J., (2000) Global patterns in biodiversity. *Nature* 405, 220-227.
- Gerea, M., Queimaliños, C., Schiaffino, R., Izaguirre, I., Forn, I., Massana, R., Unrein, F. (2013) In situ prey selection of mixotrophic and heterotrophic flagellates in Antarctic oligotrophic lakes: an analysis of the digestive vacuole content. *Journal of Plankton Research* 35(1), 201–212.
- Gerea, M., Saad, J., Izaguirre, I., Queimaliños, C., Gasol, J.M., Unrein, F. (in press) Presence, abundance and bacterivory impact of the mixotrophic algae *Pseudopedinella* (Dictyochophyceae) in freshwater environments. *Aquatic Microbial Ecology*, in press (DOI 10.3354/ame01780).
- Gibbs, J.P., (2000) Wetland loss and biodiversity conservation. *Conservation Biology*, 14(1), 314–317.
- Glöckner, F.O., Fuchs, B.M., Amann, R. (1999) Bacterioplankton compositions of lakes and oceans: a first comparison based on fluorescence in situ hybridization. *Applied and Environmental Microbiology* 65, 3721–3726.

- Gonçalves, R.J., Souza, M.S., Aigo, J., Modenutti, B., Balseiro, E., Villafañe, E., Cussac, V., Helbling, E.W. (2010) Responses of plankton and fish from temperate zones to UVR and temperature in a context of global change. *Ecología Austral* 20, 129–153.
- González Garraza, G., Mataloni, G., Iturraspe, R. et al. (2012) The limnological character of bog pools in relation to meteorological and hydrological features. *Mires and Peat*, 10, 1–14.
- Guarrera S.A., Echenique R.O. (1995) Hormogonophycideae (Cyanophyta) de Tierra del Fuego, Nuevas para Argentina. *Darwiniana* 33(1-4), 97–105.
- Guarrera, S. (1986) Orden Chroococcales. In: Guarrera S., Gamundi I. y Halperin D. (eds), *Flora Criptogámica de Tierra del Fuego*. CONICET, Buenos Aires. 66 pp.
- Hillebrand, H., Claus-Dieter, D., Kirschtel, D., Pollingher, U. y Zohary, T. (1999) Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology* 35, 403–424.
- Hillebrand, H., 2004. On the generality of the latitudinal diversity gradient. *The American Naturalist* 163, 192-211.
- Hillebrand, H., Gruner, D.S., Borer, E.T., Bracken, M.E.S., Cleland, E.E., Elser, J.J. (2007) Consumer versus resource control of producer diversity depends on ecosystem type and producer community structure. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104(26), 10904–10909.
- Hillebrand, H., Claus-Dieter, D., Kirschtel, Pollingher, U., Zohary T. (1999) Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology* 35, 403–424.
- Hitchman R.B., Jones H.L.J. (2000) The role of mixotrophic protists in the population dynamics of the microbial food web in a small artificial pond. *Freshwater Biology*, 43(2), 231–241.
- Irigoién, X., Flynn K.J., Harris, R.P. (2005). Phytoplankton blooms: A “loophole” in microzooplankton grazing impact? *Journal of Plankton Research* 27(4), 313–321.
- Isaksson A., Bergström A.-K., Blomqvist P., Jansson M. (1999) Bacterial grazing by phagotrophic phytoflagellates in a deep humic lake in northern Sweden. *Journal of Plankton Research*, 21(2), 247–268.
- Iturraspe, R., Urciuolo, A. (2000) Clasificación y caracterización de las cuencas hídricas de Tierra del Fuego. *Actas XVIII Congreso Nacional del Agua*. Río Hondo, Santiago del Estero. Jun/2000.
- Izaguirre, I. (1993) Comparative analysis of the phytoplankton of six lentic environments from the Province of Chubut (Argentina). *Physis* 48, 7–23.
- Izaguirre, I., Saad, J.F., 2014. Phytoplankton from natural water bodies of the Patagonian Plateau. *Advances in Limnology* 65, 309–319.
- Izaguirre, I., Vinocur, A., Mataloni G., Pose, M. (1998) Comparison of phytoplankton communities in relation to trophic status in lakes from Hope Bay (Antarctic Peninsula) *Hidrobiologia* 369/370, 73-87.

- Izaguirre, I., Del Giorgio P., O'Farrell I., Tell G. (1990) Clasificación de 20 cuerpos de agua Andino Patagónicos (Argentina) en base a la estructura del fitoplancton estival. *Cryptogamie Algologie* 11, 31-46.
- Izaguirre, I., Allende, L., Marinone, M.C., (2003) Comparative study of the planktonic communities of three lakes of contrasting trophic status at Hope Bay (Antarctic Peninsula). *Journal of Plankton Research* 25, 1079-1097.
- Izaguirre I., Sinistro R., Schiaffino M.R., Sánchez M.L., Unrein F. y Massana R. (2012) Grazing rates of protists in wetlands under contrasting light conditions due to floating plants. *Aquatic Microbial Ecology* 65(3), 221–232.
- Izaguirre, I., Allende, L., Escaray, R., Bustingorry, J., Pérez, G., Tell, G. (2012) Comparison of morpho-functional phytoplankton classifications in human-impacted shallow lakes with different stable states. *Hydrobiologia* 698, 203-216.
- Izaguirre, I., Unrein, F., Modenutti, B., Allende, L. (2014) Photosynthetic picoplankton in Argentina lakes. *Advances in Limnology* 65, 343–357.
- Jansson, M., Bergström, A. K., Blomqvist, P., and S. (2000) Allochthonous organic carbon and phytoplankton/bacterioplankton production relationships in lakes. *Ecology*, 81, 3250-3255.
- Jones H.L.J. (1997) A classification of mixotrophic protists based on their behaviour. *Freshwater Biology*, 37(1), 35–43.
- Jones, R.I. (1992) The influence of humic substances on lacustrine planktonic food chains. *Hydrobiologia* 229, 73–91.
- Jones R.I. (1994) Mixotrophy in planktonic protist as a spectrum of nutritional strategies. *Marine Microbial Food Webs*, 8(1-2), 87–96.
- Jones R.I. (2000) Mixotrophy in planktonic protists: an overview. *Freshwater Biology*, 45(2), 219–226.
- Jost, L., (2010) The relationship between evenness and diversity. *Diversity* 2, 207-232.
- Jost, C., Lawrence, C.A., Campolongo, F., Van de Bund, W.H.S., DeAngelis, D.L. (2004) The effects of mixotrophy on the stability and dynamics of a simple planktonic food web model. *Theoretical population biology* 66, 37–51.
- Kamjunke, N., Henrichs, T., Gaedke, U. (2006) Phosphorus gain by bacterivory promotes the mixotrophic flagellate *Dinobryon* spp. during re-oligotrophication. *Journal of Plankton Research* 29(1), 39–46.
- Karlsson, J., Jansson, M., Jonsson, A. (2002) Similar relationships between pelagic primary and bacterial production in clearwater and humic lakes. *Ecology*, 83, 2902-2910.
- Katechakis A. y Stibor H. (2006) The mixotroph *Ochromonas tuberculata* may invade and suppress specialist phago- and phototroph plankton communities depending on nutrient conditions. *Oecologia* 148, 692–701.

- Keeling P.J. (2004) Diversity and evolutionary history of plastids and their hosts. *American Journal of Botany* 91(10), 1481–1493.
- Keskitalo, J., Eloranta, P. (1999) *Limnology of humic water*. Backhuys Publishers. Leiden. Netherlands. pp. 284.
- Kirk, J.T.O. (1994) *Light and Photosynthesis in Aquatic Ecosystems*. 2nd edn. Cambridge University Press, Cambridge 509 pp.
- Kristiansen, J. (2005) *The Golden Algae: A Biology of Chrysophyceae*. Koletz Scientific Books, Keoneigestin pp 167.
- Kruk, C., Huszar, V. L. M., Peeters, E., Bonilla, S., Costa, L., Lurling, M., Reynolds C. S., Scheffer, M. (2010) A morphological classification capturing functional variation in phytoplankton. *Freshwat. Biol.* 55, 614–627.
- Lancelotti, L.L. (2009) Caracterización limnológica de lagunas de la Provincia de Santa Cruz y efectos de la introducción de trucha arco iris: (*oncorhynchus mykiss*) sobre las comunidades receptoras. Tesis doctoral. Universidad del Comahue.
- Lancelotti J.L., Pozzi L.M., Yorio P.M., Diéguez M.C. y Pascual M.A. (2009 a) Fishless shallow lakes of Southern Patagonia as habitat for waterbirds at the onset of trout aquaculture. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 19, 497–505.
- Lancelotti, J.L., Pozzi, L.M., Márquez, F., Yorio, P., Pascual, M.A. (2009 b) Waterbird occurrence and abundance in the Strobel Plateau, Patagonia, Argentina. *El Hornero* 24, 13-20.
- Lancelotti, J.L., Pozzi, L.M., Yorio, P.M., Diéguez, M.C., Pascual, M A. (2010) Precautionary rules for exotic trout aqua-culture in fishless shallow lakes of Patagonia: minimizing impacts on the threatened Hooded Grebe (*Podiceps gallardoi*). *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 20, 1-8.
- Lancelotti, J.L., Bandieri, L.M., Pascual, M.A. (2015) Diet of the exotic Rainbow Trout in the critical habitat of the threatened Hooded Grebe. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 416, p.26.
- Langeveen R.G., Huisman G.W., Preusting H., Ketelaar P., Eggink G., Witholt B. (1988) Formation of Polyesters by *Pseudomonas oleovorans*; Effect of Substrates on formation and composition of Poly-(R)-3-Hydroxyalkanoates and Poly-(R)-3-Hydroxyalkenoates. *Applied and Environmental Microbiology* 54, 2924-2932.
- Laybourn-Parry J., Roberts E.C., Bell E.M. (2000) Mixotrophy as a survival strategy among planktonic protozoa in Antarctic lakes. In: Davison W., Howard-Williams C. y Broady P. (eds) *Antarctic ecosystems: model for a wider ecological understanding*. The Caxton Press, Christchurch, p 33–40.
- Legendre, P., Borcard, D., Peres-Neto, P. (2005) Analyzing beta diversity: partitioning the spatial variation of community composition data. *Ecological Monographs* 75(4), 435–450.
- León, R.C., Bran, D., Collantes, M., Paruelo, J.M., Soriano, A. (1998) Grandes unidades de vegetación de la Patagonia extraandina. *Ecología Austral (Argentina)* 8, 125-144.

- Lepistö L., Holopainen A.L. (2003) Occurrence of Cryptophyceae and katablepharids in boreal lakes. *Hydrobiologia* 502(1-3), 307–314.
- Lind, O.T., Dávalos-Lind, L., 1991. Association of turbidity and organic carbon with bacterial abundance and cell size in a large, turbid, tropical lake. *Limnology and Oceanography* 36(6),1200–1208.
- Liu, H., Jing, H., Wong, T.H., Chen, B. (2014) Co-occurrence of phycocyanin- and phycoerythrin-rich *Synechococcus* in subtropical estuarine and coastal waters of Hong Kong. *Environmental Microbiology Reports* 6, 90–99.
- Lopes, P.M., Caliman, A., Carneiro, L.S., Bini, L.M., Esteves, F.A., Farjalla, V. Bozelli, R.L. (2011) Concordance among assemblages of upland Amazonian lakes and the structuring role of spatial and environmental factors. *Ecological Indicators* 11, 1171-1176.
- Lopez N.I., Pettinari M.J., Stackebrandt E., Tribelli P.M., Potter M., Steinbuchel A. y Mendez B.S. (2009) *Pseudomonas extremaustralis* sp. nov., a poly(3-hydroxybutyrate) producer isolated from an Antarctic environment. *Current Microbiology* 59, 514-519.
- Magurran, A.E., 2008. *Measuring Biological Diversity*. Blackwell Publishing.
- Maidana, N.I., Izaguirre, I., Vinocur, A., Mataloni, G., Pizarro, H. (2005) Diatomeas en una transecta patagónico-antártica. *Ecología Austral* 15, 159-176
- Mariazzi, A., Conzonno, V., Ulibarrena, J., Paggi, J.C., Donadelli, J.L. (1987) Limnological investigation in Tierra del Fuego, Argentina. *Biología Acuática* 10, 1–74.
- Marker A.F.H., Nusch A., Rai H., Riemann, B. (1980) The measurement of photosynthetic pigments in freshwater and standardization of methods: conclusions and recommendations. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.*, 14, 91–106.
- Martiny, J.B.H., Bohannon, B.J., Brown, J.H., Colwell, R.K., Fuhrman, J.A., Green, J.L., Horner-Devine, M.C., Kane, M., Adams Krumins, A., Kuske, C.R., Morin, J.M., Naeem, S., Øvreås, L., Reysenbach, A.L., Smith, V.H., Staley, J.T. (2006) Microbial biogeography: putting microorganisms on the map. *Nature Reviews Microbiology* 4, 102-112.
- Massana, R., Unrein, F., Rodríguez-Martínez, R., Forn, I., Lefort, T., Pinhassi, J., Not, F. (2009) Grazing rates and functional diversity of uncultured heterotrophic flagellates. *ISME journal* 3, 588–596.
- Mataloni G. (1994) Estudios florísticos y ecológicos sobre las algas de agua dulce de turberas de Tierra del Fuego. Tesis Doctoral. Universidad de Buenos Aires. Argentina.
- Mataloni, G. (1999) Ecological studies on algal communities from Tierra del Fuego peat bogs. *Hidrobiología* 391, 157–170.
- Mataloni, G., Tell, G. (1996) Comparative analysis of the phytoplankton communities of a peat bog from Tierra del Fuego (Argentina). *Hydrobiologia* 325, 101–112.
- Mazaris, A.A., Moustaka-Gouni, M., Michaloudi, E., Bobori, D.C. (2010) Biogeographical patterns of freshwater micro- and macroorganisms: a comparison between phytoplankton, zooplankton and fish in the eastern Mediterranean. *Journal of Biogeography* 37, 1341-1351.

- Medina-Sánchez J.M., Villar-argaiz M. y Carrillo P. (2004) Neither with nor without you: A complex algal control on bacterioplankton in a high mountain lake. *Limnology and Oceanography* 49(5), 1722–1733.
- Mitra A., Flynn K.J., Burkholder J.M., Berge T., Calbet A., Raven J.A., Granéli E., Glibert P.M., Hansen P.J., Stoecker D.K., Thingstad F., Tillmann U., Våge S., Wilken S. y Zubkov M.V. (2014) The role of mixotrophic protists in the biological carbon pump. *Biogeosciences* 11(4), 995–1005.
- Modenutti, B.E., Balseiro, E.G. (2002) Mixotrophic ciliates in an Andean lake: dependence on light and prey of an *Ophrydium naumanni* population. *Freshwater Biology* 47, 121–128.
- Modenutti B., Albariño R., Bastidas Navarro M., Díaz Villanueva V., Souza M.S., Trochine C., Laspoumaderes C., Cuassolo F., Mariluán G., Buria L. y Balseiro E. (2010) Structure and dynamic of food webs in Andean North Patagonian freshwater systems: organic matter, light and nutrient relationships. *Ecología Austral* 20, 95–114.
- Mulderij, G., Van Nes, E.H., Van Donk, E., (2007) Macrophyte-phytoplankton interactions: The relative importance of allelopathy versus other factors. *Ecological Modelling* 204(1-2), 85–92.
- Nabout, J.C., Siqueira, T., Bini, L.M. de S. Nogueira, I. (2009) No evidence for environmental and spatial processes in structuring phytoplankton communities. *Acta Oecologica* 35, 720-726.
- Naselli-Flores, L. and Barone, R. (2011). Fight on plankton! Or, phytoplankton shape and size as adaptive tools to get ahead in the struggle for life. *Cryptogamie Algologie* 32, 157–204.
- Pace M.L., Cole J.J., Carpenter S.R., Kitchell J.F. (1999) Trophic cascades revealed in diverse ecosystems. *Trends in Ecology and Evolution* 14, 483-488.
- Padisák J., Crossetti L.O. y Naselli-Flores L. (2009) Use and misuse in the application of the phytoplankton functional classification: a critical review with updates. *Hydrobiologia* 621(1), 1–19.
- Pålsson C., Daniel C. (2004) Effects of prey abundance and light intensity on nutrition of a mixotrophic flagellate and its competitive relationship with an obligate heterotroph. *Aquatic Microbial Ecology* 36, 247–256.
- Pålsson, C., Granéli, W. (2004) Nutrient limitation of autotrophic and mixotrophic phytoplankton in a temperate and tropical humic lake gradient. *Journal of Plankton Research* 26, 1005–1014.
- Pålsson, C., Kritzberg, E.S., Schriestoffersen, K., Granéli, W. (2005) Net heterotrophy in faroe islands clear-water lakes: causes and consequences for bacterioplankton and phytoplankton. *Freshwater biology* 50, 2011–2020.
- Panza J.L. y Franchi M.R. (2002) Magmatismo Basáltico Cenozoico Extrandino. In *Geología y Recursos Naturales de Santa Cruz. Relatorio del XV congreso Geológico Argentino*, Haller MJ (ed). El Calafate; 201:236.
- Pascual, M. Macchi, P., Urbanski, J., Marcos, F., Riva Rossi, C., Novara, M., Dell'Arciprete, P. (2002) Evaluating potential effects of exotic freshwater fish from incomplete species presence-absence data. *Biological Invasions* 4, 101–113.

- Pérez G.L., Sommaruga R. (2007) Interactive effect of solar radiation and dissolved organic matter on bacterial activity and community structure. *Environmental Microbiology* 9(9), 2200-2210.
- Pérez G.L., Torremorell A., Bustingorry J., Escaray R., Pérez P., Diéguez M. y Zagarese H. (2010) Optical characteristics of shallow lakes from the Pampa and Patagonia regions of Argentina. *Limnologica* 40(1), 30–39.
- Pernthaler, J. (2005) Predation on prokaryotes in the water column and its ecological implications. *Nature reviews. Microbiology* 3(7), 537–46.
- Pernthaler, J., Alfreider, A., Posch, T., Andreatta, S., Psenner, R. (1997) In situ classification and image cytometry of pelagic bacteria from a high mountain lake (Gossenköllesee, Austria). *Applied and Environmental Microbiology* 63, 4778–4783.
- Perotti, M.G., Diéguez, M.C. y Jara, F.G. (2005) Estado del conocimiento de humedales del norte patagónico (Argentina): Aspectos relevantes e importancia para la conservación de la biodiversidad regional. *Revista Chilena de Historia Natural* 78(4), 179–200.
- Petchey, O.L., Hector, A., Gaston, J.J. (2004) How do different measures of functional diversity perform?. *Ecology* 85, 847-857.
- Petchey, O.L., Gaston, K.J. (2007) Dendrograms and measuring functional diversity. *Oikos* 116, 1422-1426.
- Phillips, G., Pietiläinen, O.-P., Carvalho, L., Solimini, A., Lyche Solheim, A., Cardoso, A.C. (2008) Chlorophyll–nutrient relationships of different lake types using a large European dataset. *Aquatic Ecology* 42, 213–226.
- Poniewozik, M., Wojciechowska, W., and Solis, M. (2011) Dystrophy or eutrophy: phytoplankton and physicochemical parameters in the functioning of humic lakes. *Oceanol. Hydrobiological Studies* 40, 22–29.
- Porter K.G., Feig Y.S. (1980) The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnology and Oceanography* 25, 943–948.
- Queimaliños, C.P., Modenutti, B.E., Balseiro, E.G. (1999) Symbiotic association of the ciliate *Ophrydium naumanni* with *Chlorella* causing a deep chlorophyll a maximum in an oligotrophic south Andes lake. *Journal of Plankton Research* 21, 167–178.
- Quiroga, V. M., Unrein, F., González Garraza, G., Küppers, G., Lombardo, R., Marinone, M, C., Menu Marque, S., Vinocur, A., Mataloni, G. (2013) The plankton communities from peat bog pools: Structure, temporal variation and environmental factors. *Journal of Plankton Research*. En prensa.
- Quirós R., Drago E. (1985) Relaciones entre variables físicas, morfométricas y climáticas en lagos patagónicos. *Revista de la Asociación de Ciencias Naturales del Litoral* 16(2), 181–199.
- Quirós, R., Cuch S. (1985) Relaciones entre visibilidad, fósforo total y concentración de clorofila en 32 lagos patagónicos, Argentina. En, *Actas XII Congreso Nacional del Agua*, Mendoza, Tomo IC, pp. 27.

- Quirós, R., Drago, E. (1999) The environmental state of Argentinean lakes: An overview. *Lakes Reservoirs: Research and Management* 4, 55–64.
- Quirós R., Rosso J.J. Rennella A., Sosnovsky A., Bobery M. (2002) Estudio sobre el estado trófico de las lagunas pampeanas. *Interciencia* 27, 584-591.
- Raven, J.A. (1997) Phagotrophy in phototrophs. *Limnology and Oceanography* 42, 198–205.
- Raven J.A., Beardall J., Flynn K.J., Maberly S.C. (2009) Phagotrophy in the origins of photosynthesis in eukaryotes and as a complementary mode of nutrition in phototrophs: relation to Darwin's insectivorous plants. *Journal of Experimental Botany* 60(14), 3975–87.
- Reynolds C.S., Huszar V., Kruk C., Naselli-Flores L., Melo S. (2002) Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *Journal of Plankton Research* 24(5), 417–428.
- Roberts E.C., Laybourn-Parry J. (1999) Mixotrophic cryptophytes and their predators in the Dry Valley lakes of Antarctica. *Freshwater Biology* 41, 737–746.
- Rodhe, W. (1969) Crystallization of eutrophication concepts in Northern Europe. In *Eutrophication: Causes, consequences, correctives*. Proceedings of the National Academy of Sciences 1700, 50–64.
- Roesler, I., Imberti, S., Casañas, H., Mahler, B., Rebores, J.C. (2012) Hooded Grebe *Podiceps gallardoi* population decreased by eighty per cent in the last twenty-five years. *Bird Conservation International* 22, 371-382.
- Romo, S., Miracle, M.R., Villena, M.J., Rueda, J., Cerriol, F., Vicente, E. (2004) Mesocosm experiments on nutrient and fish effects on shallow lake food webs in a Mediterranean climate. *Freshwater Biology* 49(12), 1593–1607.
- Rosenberg, M.S., D.C. Adams y J. Gurevitch, (2000) *Meta Win: statistical software for meta-analysis*. Version 2.0. Sinauer, Sunderland, Mass.
- Rosenzweig, M.L. (1995) *Species diversity in space and time*. Cambridge University Press.
- Saad J.F. (2011) Impacto de depredación de protistas fagotróficos y su relación con la producción primaria y bacteriana en un lago oligotrófico y uno distrófico de Tierra del Fuego (Argentina). Tesis de licenciatura. Universidad de Buenos Aires.
- Saad, J.F., Schiaffino M.R., Vinocur A., O'Farrell I., Tell G. y Izaguirre I. (2013) Microbial planktonic communities of freshwater environments from Tierra del Fuego: dominant trophic strategies in lakes with contrasting features. *Journal of Plankton Research* 35(6), 1220–1233.
- Saez, A.G., Lozano, E. (2005) Body doubles. *Nature* 433,111.
- Salcher, M.M., Pernthaler, J., Psenner, R., Posch, T. (2005) Succession of bacterial grazing defense mechanisms against protistan predators in an experimental microbial community. *Aquatic Microbial Ecology* 38, 215-229.
- Salmaso, N., Padisák, J. (2007) Morpho-functional groups and phytoplankton development in two deep lakes (Lake Garda, Italy and Lake Stechlin, Germany). *Hydrobiologia* 578, 97–112.

- Sarmento, H., Descy, J.-P. (2008) Use of marker pigments and functional groups for assessing the status of phytoplankton assemblages in lakes. *Journal of Applied Phycology* 20, 1001–1011.
- Schallenberg, M., Sorrell, B. (2009) Regime shifts between clear and turbid water in New Zealand lakes: Environmental correlates and implications for management and restoration. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 43(3), 701–712.
- Schaus, M.H., Vanni, M.J. y Wissing, T.E. (2002) Biomass-Dependent Diet Shifts in Omnivorous Gizzard Shad: Implications for Growth, Food Web, and Ecosystem Effects. *Transactions of the American Fisheries Society* 131(1), 40–54.
- Scheffer M., Jeppesen E. (1998) Alternative stable states in shallow lakes. In: *The Structuring Role of Submerged Macrophytes in Lakes*. Eds E. Jeppesen y Ma. Søndergaard, Mo. Søndergaard y K. Christoffersen) pp. 397–407. In: *Ecological Studies*, Vol. 131. Springer Verlag, New York.
- Scheffer, M., Bascompte, J., Brock, W.A., Brovkin, V., Carpenter, S.R., Dakos, V., Held, H., Van Nes, E.H., Rietkerk, M., Sugihara, G. (2009) Early-warning signals for critical transitions. *Nature*, 461(7260), 53–59.
- Scheffer, M., Hosper, S.H., Meijer, M.L., Moss, B., Jeppesen, E. (1993) Alternative equilibria in shallow lakes. *Trends in Ecology & Evolution* 8, 275–279.
- Scheffer, M. (1998) *Ecology of Shallow Lakes*. Chapman and Hall, London, 357 pp.
- Schiaffino, M.R. (2012) Análisis biogeográfico del picoplancton de lagos en una transecta Patagónico-Antártica por métodos de biología molecular. Tesis Doctoral. Universidad de Buenos Aires.
- Schiaffino, M.R., Sánchez, M.L., Gereá, M., Unrein, F., Balagué, V., Gasol, G.M., Izaguirre, I. Distribution patterns of abundance of major bacterial and archeal groups in Patagonian lakes. *Journal of Plankton Research* EN PRENSA
- Schiaffino, M.R., Unrein, F., Gasol, J.M., Massana, R., Balague, V., Izaguirre, I. (2011) Bacterial community structure in a latitudinal gradient of lakes: the roles of spatial versus environmental factors. *Freshwater Biology* 56, 1973–1991.
- Schiaffino, M.R., Gasol, J.M., Izaguirre, I., Unrein, F. (2013) Picoplankton abundance and cytometric group diversity along a trophic and latitudinal lake gradient. *Aquatic Microbial Ecology* 68, 231–250.
- Schiaffino, M.R., Unrein, F., Gasol, J.M., Farias, M.E., Estevez, C., Balagué, V., Izaguirre, I. (2009) Comparative analysis of bacterioplankton assemblages from maritime Antarctic freshwater lakes with contrasting trophic status. *Polar biology* 32, 923–936.
- Schmera, D., Erős, T., Podani, J. (2009) A measure for assessing functional diversity in ecological communities. *Aquatic Ecology* 43, 157–167.
- Sharp J.H., Peltzer E.T., Alperin M.J., Cauwet G., Farrington J.W., Fry B., Karl D.M., Martin J.H., Spitzky A., Tugrul S. y Carlson C.A. (1993) Procedures subgroup report. *Marine Chemistry* 41, 37–49.

- Sherr B.F., Sherr E.B., Fallon R.D. (1987) Use of monodispersed, fluorescently labeled bacteria to estimate in situ protozoan bacterivory. *Applied and Environmental Microbiology* 53, 958–965.
- Šimek K., Bobková J., Macek M., Nedoma J. y Psenner R. (1995) Ciliate grazing on picoplankton in a eutrophic reservoir during the summer phytoplankton maximum: a study at the species and community level. *Limnology and Oceanography* 40, 1077–1090.
- Simon, K.S. y Townsend, C.R. (2003) Impacts of freshwater invaders at different levels of ecological organisation, with emphasis on salmonids and ecosystem consequences. *Freshwater Biology* 48(6), 982–994.
- Soininen, J. (2010) Species turnover along abiotic and biotic gradients: patterns in space equal patterns in time? *BioScience* 60, 433-439.
- Soininen, J. (2012) Macroecology of unicellular organisms – patterns and process. *Environmental Microbiology Reports* 4, 10-22.
- Soininen, J., Korhonen, J.J., Karhu, J., Vetterli, A. (2011) Disentangling the spatial patterns in community composition of prokaryotic and eukaryotic lake plankton. *Limnology y Oceanography* 56, 508-520.
- Soininen, J., McDonald, R., Hillebrand, H. (2007a) The distance decay of similarity in ecological communities. *Ecography* 30, 3-12.
- Soininen, J., Kokocinski, M., Estlander, S., Kotanen, J., Heino, J. (2007 b) Neutrality, niches, and determinants of plankton metacommunity structure across boreal wetland ponds. *Ecoscience* 14, 146-154.
- Soininen, J., Passy, S., Hillebrand, H. (2012) The relationship between species richness and evenness: a meta-analysis of studies across aquatic ecosystems. *Oecologia* 169, 803-809.
- Søndergaard, M. (1991) Phototrophic picoplankton in temperate lakes: Seasonal abundance and importance along a trophic gradient. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie* 76, 505–522.
- Steinberg, C.E.W., Kamara, S., Prokhotskaya, V.Y., Manusadzianas, V., Karasyova, T.A., Timofeyev, M.A., Jie, Z., Paul, A., Meinelt, T., Farjalla, V.F., Matsuo, A.Y.O., Burnison, B.K., Menzel, R. (2006) Dissolved humic substances - ecological driving forces from the individual to the ecosystem level? *Freshwater Biology* 51, 1189–1210.
- Stockner, J.G., Antia, N.J. (1986) Algal picoplankton from ecosystems: a multidisciplinary perspective. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 43, 2472–2503.
- Stoecker D.K. (1998) Conceptual models of mixotrophy in planktonic protists and some ecological and evolutionary implications. *European Journal of Protistology* 34, 281–290.
- Sun, J., Liu, D. (2003) Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *Journal of Plankton Research* 25, 1331-1346.
- Tell, G. (1995) Taxonomía y distribución geográfica de algunas algas de turberas de Tierra del Fuego (Argentina). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 32, 103-112.

- Tell, G., Mosto, O. (1982) Orden Chlorococcales. In Guarrera S., I. Gamundi and D. Halperin (eds), Flora Criptogámica de Tierra del Fuego. CONICET. Buenos Aires. pp. 147.
- Tell, G., Izaguirre, I., Allende, L. (2011) Diversity and geographic distribution of Chlorococcales (Chlorophyceae) in contrasting lakes along a latitudinal transect in Argentinean Patagonia. *Biodiversity and Conservation* 20, 703-727.
- Ter Braak C.J.F. (1994) Canonical community ordination. Part I. Basic theory and linear methods. *Ecoscience* 1, 127–140.
- ter Braak, C.J.F. (1988) CANOCO-aFORTRAN program for canonical community ordination by [partial] [detrended] [canonical] correspondence analysis, principal components analysis and redundancy analysis (version 2.1). Report LWA-88-02. Agricultural Mathematics Group, Wageningen. pp. 95.
- Ter Braak, C.J.F. (1991) CANOCO version 3.12. Agricultural Mathematics Group, Wageningen.
- Thingstad T.F., Havskum H., Garde K., Riemann B. (1996) On the Strategy of “Eating Your Competitor”: A Mathematical Analysis of Algal Mixotrophy. *Ecology* 77(7), 2108–2118.
- Thomason, K. (1955) Studies on South America freshwater Plankton. Plankton from Tierra del Fuego and Valdivia. *Acta Horti Gothoburgensis*. 19, 193–225.
- Thomason, K. (1957) Studies on South America freshwater plankton. 1. Notes on the plankton from Tierra del Fuego and Valdivia. *Annales Societatis Tartuensis ad Res Naturae Investigandas Constitutae* 1, 54–64.
- Thurman J., Parry J., Hill P.J., Priscu J.C., Vick T.J., Chiuchiolo A. y Laybourn-Parry J. (2012) Microbial dynamics and flagellate grazing during transition to winter in Lakes Hoare and Bonney, Antarctica. *FEMS Microbiology Ecology* 82, 449–458.
- Tittel J., Bissinger V., Zippel B., Gaedke U., Bell E., Lorke A. y Kamjunke N. (2003) Mixotrophs combine resource use to outcompete specialists: implications for aquatic food webs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100(22), 12776–12781.
- Tolotti M., Rott E., Thies H., Psenner, R. (2005) Functional species groups of summer phytoplankton in relation to lake restoration: a long-term study of Piburger See, Austria. *Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie* 29, 891–894.
- Tranvik L.J., Porter K.G. y Sieburth J.M.N. (1989) Occurrence of Bacterivory in *Cryptomonas*, a Common Freshwater Phytoplankter. *Oecologia*, 78, 473–476.
- Unrein F., Gasol J.M. y Massana R. (2010) Dinobryon *faculiferum* (Chrysophyta) in coastal Mediterranean seawater: presence and grazing impact on bacteria. *Journal of Plankton Research* 32(4), 559–564.
- Unrein, F., Izaguirre, I., Massana, R., Balagué, V., Gasol, J.M. (2005) Nanoplankton assemblages in maritime Antarctic lakes: characterisation and molecular fingerprinting comparison. *Aquatic Microbial Ecology* 40, 269-282.

- Unrein, F., Massana, R., Alonso-sáez, L., Gasol, J.M. (2007) Significant year-round effect of small mixotrophic flagellates on bacterioplankton in an oligotrophic coastal system. *Limnology and Oceanography* 52, 456–469.
- Unrein F., Gasol J.M., Not F., Forn I. y Massana R. (2014) Mixotrophic haptophytes are key bacterial grazers in oligotrophic coastal waters. *The ISME Journal*, 8(1) 164–176.
- Urabe J., Gurung T.B., Yoshida T., Sekino T., Nakanishi M., Maruo M. y Nakayama E. (2000) Diel changes in phagotrophy by *Cryptomonas* in Lake Biwa. *Limnology and Oceanography* 45(7), 1558–1563.
- Utermöhl H. (1958) Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton- methodik. *Mitteilung Internationale Vereinigung fuer Theoretische unde Amgewandte Limnologie* 9, 1–38.
- Van Donk, E., Van de Bund, W.J. (2002) Impact of submerged macrophytes including charophytes on phyto- and zooplankton communities: Allelopathy versus other mechanisms. *Aquatic Botany* 72(3-4), 261–274.
- Van Hove P., Vincent W.F., Galand P.E. et al. (2008) Abundance and diversity of picocyanobacteria in High Arctic lakes and fjords. *Algological Studies* 126, 209–227.
- Vanormelingen, P., Cottenie, K., Muchels, E., Muylaert, K., Vyverman, W. de Meester, L. (2008) The relative importance of dispersal and local processes in structuring phytoplankton communities in a set of highly interconnected ponds. *Freshwater Biology* 53, 2170-2183.
- Vaqué, D., Casamayor, E.O. and Gasol, J.M. (2001) Dynamics of whole community bacterial production and grazing losses in seawater incubations as related to the changes in the proportions of bacteria with different DNA content. *Aquatic Microbial Ecology* 25, 163-177.
- Venrick E.L. (1978) How many cells to count? In Sournia, A. (ed), *Phytoplankton Manual*. UNESCO, Paris, France.
- Vigna, M.S., Kristiansen, J. (1996) Biogeographic Implications of New Records of Scale-bearing Chrysophytes from Tierra del Fuego (Argentina). *Archiv für Protistenkunde* 147, 137–144.
- Vinocur, A., Unrein, F. (2000) Typology of lentic water bodies at Potter Peninsula (King George Island, Antarctica) based on physical-chemical characteristics and phytoplankton communities. *Polar Biology* 23, 858-870.
- Vörös, I., Callieri, C., V-Balogh, K., et al. (1998) Freshwater picocyanobacteria along a trophic gradient and light quality range. *Hydrobiologia* 369/370, 117–125.
- Vörös, L., Mózes, A., Somogyi, B. (2009) A five-year study of autotrophic winter picoplankton in Lake Balaton, Hungary. *Aquatic Ecology* 43, 722-734.
- Ward, B.A., Dutkiewicz, S., Barton, A.D., Follows, M.J. (2011) Biophysical aspects of resource acquisition and competition in algal mixotrophs. *American naturalist* 178, 98–112.
- Weisse, T. (2008) Distribution and diversity of aquatic protists: an evolutionary and ecological perspective. *Biodiversity and Conservation* 17, 243-259.

Weithoff G. (2003) The concepts of 'plant functional types' and 'functional diversity' in lake phytoplankton- a new understanding of phytoplankton ecology?. *Freshwater Biology* 48(9), 1669–1675.

Wetzel R., Dikens G. *Limnological Analyses*. 3rd. ed. New York: Springer-Verlag. 2000.

Wetzel, R.G. (ed) (2001) *Limnology*, 3rd edition. Academic, San Diego.

Whittaker, R.H. (1960) Vegetation of the Siskiyou Mountains, Oregon and California. *Ecological Monographs* 30, 280–338.

Wilken S., Schuurmans J.M. y Matthijs H.C.P. (2014) Do mixotrophs grow as photoheterotrophs? Photophysiological acclimation of the chrysophyte *Ochromonas danica* after feeding. *New Phytologist* 204(4), 882–889.

Willén, E. (2003) Dominance patterns of planktonic algae in Swedish forest lakes. *Hydrobiologia* 502, 315–324.

Williamson, C.E., Morris, D.P., Pace, M.L., Olson, O.G. (1999) Dissolved organic carbon and nutrients as regulators of lake ecosystems: Resurrection of a more integrated paradigm. *Limnology and Oceanography* 44, 795–803.

Willig, M.R., Kaufman, D.M., Stevens, R.D. (2003) Latitudinal gradients of biodiversity: pattern, process, scale, and synthesis. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 273-309.

Zar, J.H. (2010) *Biostatistical analysis*. Prentice Hall, Englewood Cliffs.

Anexo 1

Taxa de grupos fitoplanctónicos identificados mediante análisis microscópico en los diferentes grupos de lagos (Patagonia y Antártida)

	Lagos de la meseta / estepa patagónica	Lagos profundos andinos	Lagos someros andinos	Lagos húmicos y lagunas de Tierra del Fuego	Lagos antárticos
Cyanobacteria					
<i>Anabaenopsis elenkinii</i>	X				
<i>Aphanizomenon</i> sp.	X				
<i>Aphanocapsa delicatissima</i>	X	X	X		X
<i>Aphanocapsa elachista</i>	X	X	X		
<i>Aphanocapsa incerta</i>			X		
<i>Aphanocapsa</i> sp.1	X		X		
<i>Aphanocapsa</i> sp.2	X				
<i>Aphanothece caldiorum</i>	X		X		
<i>Aphanothece calthrata</i>	X				
<i>Aphanothece</i> cf. <i>nidulans</i>	X				X
<i>Aulosira</i> sp.			X		
<i>Chroococcus limneticus</i>	X				
<i>Chroococcus minor</i>	X				
<i>Chroococcus minutus</i>	X	X	X		X
<i>Chroococcus</i> sp.1					X
<i>Chroococcus</i> sp.2		X			
<i>Coelosphaerium kuetzingianum</i>	X	X			
<i>Coelosphaerium</i> cf. <i>minutissimum</i>	X				
<i>Coelosphaerium</i> sp.	X	X			
<i>Cyanodictyon imperfectum</i>		X			
<i>Dolichospermum</i> sp.1	X				
<i>Dolichospermum</i> sp.2	X				
<i>Eucapsis minuta</i>					X
<i>Eucapsis starmachii</i>	X	X			
<i>Gomphosphaeria aponina</i>	X				
<i>Leptolyngbya antartica</i>					X
<i>Leptolyngbya fragilis</i>	X				X
<i>Leptolyngbya</i> cf. <i>frigida</i>	X	X			X
<i>Leptolyngbya</i> sp.	X	X		X	
<i>Merismopedia glauca</i>	X				
<i>Merismopedia tenuissima</i>	X				X
<i>Merismopedia</i> sp.	X				
<i>Microcystis firma</i>	X				
<i>Microcystis</i> sp.	X				
<i>Myxosarcina</i> sp.	X				
<i>Nostoc</i> sp.	X				
<i>Phormidium autumnale</i>					X
<i>Phormidium foveolarum</i>	X				
<i>Phormidium</i> sp.1	X	X	X		X
<i>Phormidium</i> sp.2					X
<i>Planktolyngbya contorta</i>	X				

<i>Planktolyngbya limnetica</i>	X		X		
<i>Planktolyngbya</i> sp.	X				
<i>Pseudanabaena catenata</i>	X		X		
<i>Pseudanabaena tenuis</i>	X				
<i>Pseudanabaena</i> sp.	X			X	
<i>Rhabdoderma</i> sp.	X				
<i>Snowella septentrionalis</i>	X				
<i>Synechococcus</i> sp.		X			X
Chrysophyceae					
<i>Chromulina</i> sp.1		X			
<i>Chromulina</i> sp.2	X	X	X		
<i>Chrysocapsa</i> cf. <i>planktonica</i>			X		
<i>Dinobryon cylindricum</i>			X	X	
<i>Dinobryon divergens</i>	X		X		
<i>Dinobryon</i> cf. <i>sertularia</i>	X				
<i>Dinobryon</i> sp.		X		X	
<i>Mallomonas</i> sp.1	X			X	
<i>Mallomonas</i> sp.2	X				
<i>Ochromonas</i> sp.1	X	X	X	X	X
<i>Ochromonas</i> sp.2					X
<i>Salpingoeca</i> sp.	X				
<i>Syncrypta globosa</i>			X		
<i>Synura uvella</i>	X				
Chrysophyceae sp.1	X				X
Chrysophyceae sp.2	X				
Chrysophyceae sp.3	X				X
Chrysophyceae sp.4	X	X	X	X	X
Chrysophyceae cysts	X	X	X	X	X
Chlorophyceae					
<i>Acutodesmus acuminatus</i>	X				
<i>Acutodesmus</i> cf. <i>acutiformis</i>	X				
cf. <i>Ankyra</i>	X				
<i>Ankistrodesmus fusiformis</i>	X			X	
<i>Ankistrodesmus gracilis</i>	X				
<i>Ankistrodesmus spiralis</i>	X				
<i>Botryococcus braunii</i>	X		X		
<i>Botryosphaerella sudetica</i>	X				
<i>Carteria</i> sp.	X				
cf. <i>Choricystis</i>		X			
<i>Chlamydomonas minutissima</i>	X				
<i>Chlamydomonas nivalis</i>					X
<i>Chlamydomonas subcaudata</i>					X
<i>Chlamydomonas</i> sp.1	X				X
<i>Chlamydomonas</i> sp.2	X				
<i>Chlamydomonas</i> sp.3	X				
<i>Chlamydomonas</i> sp.4	X	X	X		X
<i>Chlamydomonas</i> sp.5	X	X	X		X
<i>Chlamydomonas</i> sp.6	X	X	X		X
<i>Chlamydomonas</i> sp.7	X				X
<i>Chlamydomonas</i> spp.	X	X	X	X	X
<i>Chlorella</i> sp.1	X	X	X		

<i>Chlorella</i> sp.2	X				
<i>Chlorogonium elongatum</i>	X				
<i>Chloromonas</i> sp.	X				
<i>Coelastrum astroideum</i>	X				
<i>Coelastrum microporum</i>	X			X	
<i>Coenocystis planctonica</i>	X				
<i>Coenocystis subcylindrica</i>	X				
<i>Coenochloris</i> sp.	X				
<i>Crucigenia rectangularis</i>	X		X		
<i>Desmodesmus intermedius</i>	X				
<i>Desmodesmus opoliensis</i>		X			
<i>Desmodesmus quadricaudatus</i>	X				
<i>Desmodesmus subspicatus</i>	X				
<i>Dictyosphaerium pulchellum</i>		X			
<i>Dictyosphaerium tetrachotomum</i>	X	X			
<i>Dictyosphaerium</i> sp.	X				
<i>Didymocystis bicellularis</i>	X				
<i>Didymocystis</i> sp.	X		X		
<i>Elakatothrix lacustris</i>	X				
<i>Eremosphaera eremosphaeria</i>	X				
<i>Eudorina elegans</i>	X				
<i>Eutetramorus fottii</i>	X	X	X		
<i>Fusola viridis</i>	X		X		
<i>Kirchneriella contorta</i>	X				
<i>Kirchneriella irregularis</i>				X	
<i>Koliella</i> sp.					X
<i>Lobocystis</i> sp.	X				
<i>Micractinium pusillum</i>	X				
<i>Monoraphidium arcuatum</i>	X				
<i>Monoraphidium caribeum</i>	X				
<i>Monoraphidium circinale</i>	X	X	X	X	
<i>Monoraphidium contortum</i>	X	X	X	X	
<i>Monoraphidium fortile</i>	X				
<i>Monoraphidium griffithii</i>	X		X	X	
<i>Monoraphidium indicum</i>	X	X			
<i>Monoraphidium komarkovae</i>	X				
<i>Monoraphidium minutum</i>	X			X	
<i>Monoraphidium pusillum</i>	X				
<i>Monoraphidium subclavatum</i>	X				
cf. <i>Muriella</i>	X				
<i>Oedogonium</i> sp.	X	X			
<i>Oocystis lacustris</i>	X	X			
<i>Oocystis marssonii</i>	X		X		
<i>Oocystis parva</i>	X				
<i>Oocystis solitaria</i>			X		
<i>Oocystis</i> sp.	X				
<i>Palmella</i> sp.					X
<i>Paulschulzia pseudovolvox</i>	X				
<i>Paulschulzia tenera</i>	X		X		
<i>Pediastrum duplex</i>		X			

<i>Pediastrum mustersii</i>	X				
<i>Pediastrum</i> sp.			X		
<i>Phacotus lenticularis</i>	X				
<i>Planktonema lauterbornii</i>	X				
<i>Planktosphaeria gelatinosa</i>	X				
<i>Pseudopediastrum kawraiskyi</i>	X				
<i>Pteromonas cordiforme</i>	X				
<i>Pteromonas</i> sp.	X				
<i>Raphidonema nivale</i>					X
<i>Scenedesmus armatus</i>			X		
<i>Scenedesmus circumfusus</i>	X				
<i>Scenedesmus ecornis</i>	X		X		
<i>Scenedesmus</i> sp.1	X	X			
<i>Scenedesmus</i> sp.2	X	X	X		
<i>Scenedesmus</i> sp.3	X				
<i>Scenedesmus</i> sp.4		X			
<i>Schroederia antillarum</i>	X				
<i>Schroederia indica</i>	X				
<i>Schroederia robusta</i>	X				
<i>Schroederia setigera</i>	X				
<i>Spermatozopsis</i> sp.	X				
<i>Sphaerellopsis</i> sp.			X		
<i>Stichococcus minutissimus</i>					X
<i>Stilosphaeridium chlorangeloides</i>	X				
<i>Tetraedron minutum</i>	X				
<i>Tetraedron pentaedricum</i>	X				
<i>Tetraedron</i> sp.	X				
<i>Tetrastrum komarekii</i>		X			
<i>Tetrastrum triangulare</i>	X				X
<i>Tetrastrum</i> sp.	X				X
<i>Thorakocloris</i> sp.			X		
<i>Trochiscia</i> sp.				X	
<i>Westella bothryoides</i>	X				
<i>Willea</i> sp.	X				
Zygophyceae					
<i>Closterium acutum</i>				X	
<i>Closterium</i> cf. <i>acutum</i> var. <i>variabile</i>	X				
<i>Closterium parvulum</i>	X				
<i>Closterium setaceum</i> var. <i>elongatum</i>			X		
<i>Closterium leibleinii</i>	X				
<i>Closterium</i> sp.		X			
<i>Cosmarium bioculatum</i>	X	X		X	
<i>Cosmarium cylindricum</i>	X				
<i>Cosmarium laeve</i>					X
<i>Cosmarium obtusatum</i>	X				
<i>Cosmarium</i> sp.1	X	X	X	X	
<i>Cosmarium</i> sp.2	X				
<i>Cylindrocystis</i> sp.	X				

<i>Euastrum dubium</i>			X		
<i>Euastrum</i> sp.	X	X			
<i>Mougeotia</i> sp.	X	X			
<i>Spirogyra</i> sp.	X				
<i>Staurastrum paradoxum</i>	X	X	X		
<i>Staurastrum tohopekaligense</i>				X	
<i>Staurastrum</i> sp.	X			X	
<i>Staurodesmus subulatus</i>			X		
Cryptophyceae					
<i>Chroomonas</i> sp.	X	X		X	
<i>Cryptomonas ovata</i>	X		X		
<i>Cryptomonas</i> cf. <i>erosa</i>	X		X		
<i>Cryptomonas marsonii</i>	X			X	
<i>Cryptomonas</i> sp.1	X			X	
<i>Cryptomonas</i> spp.	X	X	X	X	X
<i>Plagioselmis</i> cf. <i>lacustris</i>	X	X	X	X	
<i>Plagioselmis nanoplanctonica</i>	X		X		
Bacillariophyceae					
<i>Achnanthes</i> sp.1	X	X	X		X
<i>Achnanthes</i> sp.2		X	X		
<i>Achnantheidium delicatula</i>					X
<i>Achnantheidium exiguum</i>	X				
<i>Achnantheidium minutissimum</i>		X	X		
<i>Achnantheidium pyrenaicum</i>					X
<i>Amphipleura</i> sp.	X				
<i>Amphora</i> sp.				X	
<i>Aulacoseira granulata</i>	X		X		
<i>Aulacoseira</i> sp.				X	
<i>Asterionella formosa</i>	X				
<i>Asterionella</i> sp.		X	X		
<i>Campylodiscus</i> sp.	X				
<i>Cocconeis placentula</i> var. <i>placentula</i>	X		X		
<i>Cocconeis placentula</i> var. <i>lineata</i>		X			
<i>Cocconeis</i> sp.	X		X		
<i>Cyclotella ocellata</i>		X			
<i>Cyclotella</i> sp.1		X			
<i>Cyclotella</i> sp.2	X				
<i>Cymbella</i> sp.	X	X		X	
<i>Craticula</i> cf. <i>ambigua</i>			X		
<i>Craticula cuspidata</i>	X				
<i>Diatoma moniliformis</i>	X				
<i>Discostella stelligera</i>		X			
<i>Ephitemia adnata</i>	X		X		
<i>Ephitemia sorex</i>	X				
<i>Ephitemia</i> sp.	X				
<i>Eunotia</i> sp.1	X				
<i>Eunotia</i> sp.2	X				
<i>Fragilaria capuccina</i>		X			
<i>Fragilaria</i> sp.1	X	X			

<i>Fragilaria</i> sp.2	x		x		
<i>Fragilaria</i> sp.3	x			x	
<i>Gomphonema clavatum</i>					x
<i>Gomphonema longiceps</i> var. <i>subclavatum</i>	x				
<i>Gomphonema</i> cf. <i>parvulum</i>	x	x			
<i>Gomphonema truncatum</i>			x		
<i>Gomphonema</i> sp.	x	x	x		
<i>Gyrosigma</i> sp.	x				
<i>Halamphora dusenii</i>					x
<i>Halamphora veneta</i>	x				
<i>Hantzchia amphioxys</i>					x
<i>Humidophila contenta</i>					x
<i>Humidophila tabellariaeformis</i>					x
<i>Luticola muticopsis</i>					x
<i>Luticola</i> sp.	x				
<i>Navicula peregrina</i>	x				
<i>Navicula viridula</i>			x		
<i>Navicula</i> sp.1	x				
<i>Navicula</i> sp.2	x				
<i>Navicula</i> sp.3	x	x	x	x	x
<i>Navicula</i> sp.4	x			x	
<i>Navicula</i> sp.5	x			x	x
<i>Navicula</i> sp.6	x				
<i>Neidium</i> sp.				x	
<i>Nitzschia</i> cf. <i>acicularis</i>	x	x	x	x	x
<i>Nitzschia</i> cf. <i>frustulum</i>	x	x	x		
<i>Nitzschia inconspicua</i>					x
<i>Nitzschia intermedia</i>		x			
<i>Nitzschia gracilis</i>	x				
<i>Nitzschia</i> cf. <i>linearis</i>	x				
<i>Nitzschia</i> cf. <i>palea</i>	x		x		x
<i>Nitzschia paleacea</i>					x
<i>Nitzschia sigma</i>	x				
<i>Nitzschia</i> sp.1	x	x			x
<i>Nitzschia</i> sp.2	x	x		x	
<i>Nitzschia</i> sp.3	x				
<i>Nitzschia</i> sp.4	x	x	x	x	x
<i>Nitzschia</i> sp.2				x	
<i>Nitzschia</i> sp.5	x	x	x	x	
<i>Nitzschia</i> sp.6	x				
<i>Pinnularia microstauron</i>					x
<i>Pinnularia viridiformis</i>	x				
<i>Pinnularia</i> sp.	x				
<i>Placoneis placentula</i>			x		
<i>Planothidium frequentissimum</i>	x				
<i>Planothidium lanceolatum</i> var. <i>lanceolatum</i>	x		x		
<i>Planothidium lanceolatum</i> var. <i>haynaldii</i>					x
<i>Psammothidium germainii</i>					x

<i>Pseudostaurosira brevistriata</i>	x				
<i>Rhizosolenia longiseta</i>		x	x		
<i>Stauroneis anceps</i> fo. <i>gracilis</i>					x
<i>Staurosira construens</i>	x	x			
<i>Staurosira venter</i>		x	x		
<i>Staurosirella leptostauron</i>	x				
<i>Staurosirella</i> aff. <i>pinnata</i>	x				
<i>Stenphanocyclus meneghiniana</i>	x	x			x
<i>Surirella robusta</i>	x				
<i>Surirella</i> sp.	x				
<i>Tabelaria tabulata</i>					x
<i>Ulnaria acus</i>			x		
<i>Ulnaria ulna</i>	x		x		x
<i>Ulnaria</i> sp.	x	x		x	
Euglenophyceae					
<i>Euglena acus</i>	x				
<i>Euglena oxyuris</i>	x				
<i>Euglena spirogyra</i>	x				
<i>Euglena variabilis</i>	x				
<i>Euglena</i> sp.	x			x	
<i>Lepocinclis ovum</i>				x	
<i>Lepocinclis</i> sp.	x			x	
<i>Phacus pseudonordstedtii</i>	x				
<i>Phacus</i> sp.1	x				
<i>Phacus</i> sp.2	x				
<i>Phacus</i> sp.3	x				
<i>Strombomonas verrucosa</i>	x				
<i>Trachelomonas intermedia</i>	x				
<i>Trachelomonas</i> cf. <i>irregularis</i>				x	
<i>Trachelomonas kellogii</i>			x		
<i>Trachelomonas rugulosa</i>	x				
<i>Trachelomonas volvocina</i>				x	
Dinophyceae					
<i>Peridinium</i> sp.1	x			x	
<i>Peridinium</i> sp.2				x	
<i>Peridinium</i> sp.3	x				
Tribophyceae					
<i>Goniochloris</i> sp.	x				
Haptophyceae					
<i>Chrysocromulina parva</i>				x	
cf. <i>Chrysocromulina</i>	x	x		x	
Haptophyceae n.i	x		x		
Dictyochophyceae					
cf. <i>Pseudopedinella</i>	x			x	

Anexo 2

Grupos funcionales de fitoplancton observados en los diferentes grupos de lagos de la Patagonia y la Antártida

	Patagonian Plateau steppe lakes	/ Deep Andean lakes	Andean shallow lakes	Humic lakes and ponds Tierra del Fuego	Antarctic lakes
B		X			
C	X	X	X		X
D	X	X	X	X	X
E	X	X	X	X	
F	X	X	X	X	X
G	X		X		
H	X		X		
H1	X				
J	X	X	X	X	X
K	X	X	X		X
L	X	X	X	X	X
Lm	X	X			
MP	X	X	X	X	X
N	X	X	X	X	X
P	X	X	X	X	X
S1	X	X	X	X	X
T	X	X			X
W1	X			X	
W2	X		X	X	
Ws	X				
X1	X	X	X	X	
X2	X	X	X	X	X
X3	X	X	X	X	X
Xph	X				
Y	X	X	X	X	X
Z	X	X	X	X	X

Subsidios que financiaron esta Tesis

Las investigaciones en esta tesis fueron financiadas por:

- Fondo para la investigación científica y técnica (FONCYT, PICT 32732)
- Fondo para la investigación científica y técnica (FONCYT, PICT 0794)
- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET, PIP 418)
- Universidad de Buenos Aires (UBACyT 01/Y018)